Original Article

The effect of 5-HT_3 receptor agonist of the ventral hippocampus on amnesia induced by ethanol in mice

Asadi Motlagh M[1], Pakpour B[1*], Navaian M[2]

1- Department of Biology, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, I. R. Iran.
2- Department of Biology, Yadegar-e-Imam Khomeini (RAH) Shahre Rey Branch, Islamic Azad University, Tehran, I. R. Iran.

Received: 2018/02/10 | Accepted: 2018/07/4

Abstract:

Background: The aim of this study was to investigate the effect of 5-HT_3 receptor agonist in the CA1 hippocampus area on demolition of ethanol-induced memory.
Materials and Methods: This study was conducted on 96 NMRI mice. Ethanol was injected intraperitoneally, while 5-HT_3 receptor agonist (MCHL) was injected intra-CA1. To assess the memory, a single-trial step-down passive avoidance apparatus was used.
Results: Results showed that pre-training injection of ethanol (1mg/kg), and MCHL (0.5 ng/mouse) decreased a passive avoidance memory in the adult mice. Also, a non- effective dose of MCHL (0.005 ng/mouse) with a non- effective dose of ethanol (0.01mg/kg) induced amnesia. Also, the results showed that injection of different doses of MCHL (0.5, 0.05, and 0.005 ng/mouse) combined with an effective dose of ethanol (1mg/kg) could retrieve damaged memory by ethanol.
Conclusion: Findings of this study showed that the CA1 region of the hippocampus has an important role in amnesia induced by serotonin and serotonin CA1 5-HT_3 receptor agonists have interaction with ethanol.

Keywords: 5-HT_3, Ethanol, Passive avoidance memory, Hippocapus, Mice

* **Corresponding Author.**
Email: b_pakpour@yahoo.com
Tel: 0098 912 375 5440
Fax: 0098 218 860 0184

Conflict of Interests: ***No***
Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, August, 2018; Vol. 22, No 3, Pages 239-247

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-11]

Please cite this article as: Asadi Motlagh M, Pakpour B, Navaian M. The effect of 5-HT_3 receptor agonist of the ventral hippocampus on amnesia induced by ethanol in mice. ***Feyz*** 2018; 22(3): 239-47.

اثر آگونیست گیرنده $5\text{-}HT_3$ هیپوکامپ جانبی بر فراموشی ناشی از اتانول در موش‌های کوچک آزمایشگاهی

معصومه اسدی مطلق [۱]، بهاره پاکپور [۲*]، مجید نوائیان [۳]

خلاصه:

سابقه وهدف: هدف از این مطالعه بررسی تاثیر آگونیست گیرنده $5\text{-}HT_3$ در ناحیه CA1 هیپوکامپ بر تخریب حافظه القا شده به‌وسیله اتانول است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی از ۹۶ سر موش کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMRI استفاده گردید. اتانول به روش درون‌صفاقی و آگونیست گیرنده $5HT_3$ (MCHL) در ناحیه CA1 هیپوکامپ تزریق شد. برای بررسی حافظه اجتنابی مهاری از دستگاه Step-Down یک‌طرفه استفاده شد.

نتایج: بررسی‌ها نشان دادند که تزریق پیش از آموزش اتانول (۱ mg/kg) و MCHL (۰/۵ ng/mouse) باعث تخریب حافظه اجتنابی مهاری می‌شود. همچنین، تزریق دوز غیرموثر MCHL (۰/۰۰۵ ng/mouse) همراه با دوز غیرموثر اتانول (۰/۰۱ mg/kg) منجر به تخریب حافظه می‌شود. به‌علاوه، مشاهده شد که تزریق دوزهای مختلف MCHL (۰/۵ ng/mouse، ۰/۰۵، ۰/۰۰۵) همراه با دوز موثر اتانول (۱ mg/kg) منجر به بازگشت حافظه تخریب شده توسط اتانول می‌شود.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه قویا نشان می‌دهد که ناحیه CA1 هیپوکامپ نقش مهمی در فراموشی ناشی از سروتونین داشته و آگونیست گیرنده‌های $5\text{-}HT_3$ سروتونینی این ناحیه با اتانول تداخل عمل دارند.

واژگان کلیدی: $5\text{-}HT_3$، اتانول، حافظه اجتنابی مهاری، هیپوکامپ، موش‌های کوچک آزمایشگاهی

دو ماه‌نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره بیست و دوم، شماره ۳، مرداد و شهریور ۹۷، صفحات ۲۴۷-۲۳۹

مقدمه

حافظه و یادگیری ارتباط تنگاتنگی باهم دارند. یادگیری را تغییرات سازشی در رفتار می‌دانند که در اثر کسب دانش از محیط اطراف به‌دست می‌آید و حافظه را توانایی ذخیره و جمع‌آوری اطلاعات تعریف می‌کنند [۱]. ورودی‌های حسی و ارتباطی از قشر مخ به هیپوکامپ و پاراهیپوکامپ سیستم لیمبیک در زمینه حافظه و یادگیری اهمیت زیادی دارند [۳،۲]. شواهد زیادی در مورد برهم‌کنش اتانول و گیرنده‌های سروتونرژیک در سطح سلولی و مولکولی وجود دارد، ولی علی‌رغم وجود این شواهد برهم‌کنش اتانول و گیرنده‌های سروتونرژیک در زمینه رفتاری چندان مورد توجه و بررسی قرار نگرفته است [۴].

مطالعات نشان می‌دهد که اتانول بخش زیادی از اثر مخرب خود بر حافظه را از طریق اثر روی هیپوکامپ پشتی اعمال می‌نماید؛ این اثر به‌قدری زیاد می‌باشد که حتی مصرف کوتاه‌مدت اتانول باعث تغییر نوروفیزیولوژیکی هیپوکامپ می‌شود. شواهد موجود نشان می‌دهند که اتانول اثرات خود روی سیستم عصبی را با تاثیر مستقیم یا غیرمستقیمی که روی سیستم‌های نوروترانسمیتری مختلف به‌ویژه استیل کولین، دوپامین، گابا، گلوتامات و نوروترانسمیترهای آمینواسیدی می‌گذارد، اعمال می‌نماید [۳]. باوجود تاثیرگذاری اتانول روی سیستم‌های نوروترانسمیتری مختلف، به‌نظر می‌رسد که تاثیر اتانول بر سیستم کولینرژیک، به‌ویژه در ناحیه هیپوکامپ، در میانجی‌گری اثرات مخرب اتانول روی حافظه نقش کلیدی‌تری دارد [۵]. شواهد موجود نشان می‌دهد که اتانول می‌تواند رهایش استیل کولین را در هیپوکامپ و قشر مخ کاهش دهد [۶]. باتوجه به اینکه داروهایی که سیستم کولینرژیک را در مغز تقویت می‌نمایند، باعث تسهیل حافظه شده و بالعکس موادی که سیستم کولینرژیک را تضعیف می‌نمایند، نظیر آنتاگونیست‌های گیرنده‌های کولینرژیک یا مواد کاهنده رهایش استیل کولین، باعث تخریب حافظه می‌گردند، می‌توان انتظار داشت بخش اعظمی از اثرات مخرب اتانول بر حافظه با کاهش رهایش اتانول به‌ویژه در نواحی کلیدی موثر بر تثبیت حافظه نظیر هیپوکامپ بروز نماید. یکی از مهم‌ترین نوروترانسمیترها در سیستم عصبی مرکزی

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد تهران مرکز، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

[۲] استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد تهران مرکز، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

[۳] استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، واحد یادگار امام خمینی (ره)، دانشگاه آزاد اسلامی، شهر ری، ایران

* نشانی نویسنده مسئول:
دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکزی، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی، تهران، ایران

تلفن: ۰۹۱۲۳۷۵۵۴۴۰ دورنویس: ۰۲۱۴۴۶۰۰۱۸۴

پست الکترونیک: b_pakpour@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۱/۲۱ تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۴/۱۳

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-11]

سروتونین (5-hydroxy tryptamine; 5-HT) است که از تریپتوفان مشتق شده و در دستگاه گوارش، پلاکت‌ها و در سیستم اعصاب مرکزی یافت می‌شود [۶]. این میانجی به هورمون شادی نیز معروف است و بر حوصله [۷] و خلق‌وخو، رفتارهای جنسی [۸]، اشتها، خواب [۹]، حافظه [۱۱،۱۰]، احساس و اضطراب [۱۲]، دمای بدن [۱۳]، حرکت [۱۵،۱۴]، انقباض عضلات، عملکرد سیستم‌های قلبی-عروقی و غدد درون‌ریز [۱۶] و جذب آب [۱۷] تاثیر دارد. تقریبا ۸۰ درصد سروتونین کل بدن انسان در سلول‌های انتروکرومافین روده وجود داشته [۱۸] و بقیه آن در نورون‌های سروتونرژیک CNS ساخته می‌شود [۴،۱۸]. اجسام سلولی نورون-های تولید کننده 5-HT به‌طور اساسی در هسته رافه قرار گرفته‌اند و آکسون آنها در بیشتر مناطق مختلف مغزی همانند هیپوکامپ، آمیگدال و هیپوتالاموس مشخص شده است [۱۸]. تمام خانواده-های گیرنده‌های 5-HT بیان قابل‌توجهی در هیپوکامپ دارند [۱۸]. گیرنده‌های سروتونینی به ۷ خانواده $5\text{-HT}_{1\text{-}7}$ طبقه‌بندی می‌شوند [۲۰،۱۹]. در میان این گیرنده‌ها 5-HT_3 تنها گیرنده متصل به کانال یونی است که با فعالیت آن منجر به نفوذ کلسیم و سدیم می‌شود [۲۰،۱۹]. 5-HT به‌عنوان یک عامل موثر از طریق مسیرهای کو-لینرژیک در انتقال اطلاعات نقش دارد [۲۲،۲۱]. آگونیست و آنتاگونیست گیرنده 5-HT_3 موجب تخریب حافظه شده و از طرف دیگر بعضی تحقیقات تقویت حافظه را به‌وسیله آنتاگونیست 5-HT_3 [۲۳] و بعضی دیگر بی‌تاثیر بودن آن را بر حافظه نشان داده-اند [۲۵،۲۴]. اثر سروتونین بر حافظه به‌خوبی مشخص نشده و از تحقیقات انجام شده در این زمینه نتایج متناقضی حاصل شده است [۲۷،۲۶]. باتوجه به برهم‌کنش اتانول و گیرنده‌های سوتونرژیک در زمینه حافظه و یادگیری و در نظر گرفتن این موضوع که اتانول و سروتونین هر دو قادر به تخریب حافظه می‌باشند، در این مطالعه برای اولین بار تاثیر سروتونین روی حافظه تخریب شده توسط اتانول بررسی شده است. باتوجه به اینکه مطالعات انجام شده نشان داده است که اتانول به‌واسطه اثر بر سیستم‌های گاباارژیک، گلوتاماترژیک و کولینرژیک باعث اختلال در LTP و تخریب حافظه می‌گردد و سیستم سروتونینی نیز از طریق همین سیستم‌ها روی حافظه و یادگیری موثر است، شاید بتوان بین این دو سیستم رابطه رفتاری پیدا کرد.

مواد و روش‌ها

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 شده و در هر قفس ۵ سر موش قرار داده شد. در طول آزمایش آب و غذای کافی در اختیار موش‌ها قرار گرفت و هر سه روز یک‌بار قفس موش‌ها تمیز می‌شد. دمای حیوانخانه ۳±۲۲ درجه سانتی‌گراد بود. به‌مدت یک هفته به موش‌ها اجازه داده شد تا خود را با شرایط حیوانخانه وفق داده و در طول آن هفته هر روز حیوان‌ها Handling می‌شدند تا در موقع آزمایش استرس ناشی از گرفتن و کار با آنها وجود نداشته باشد. هر حیوان فقط یک‌بار استفاده می-شد و حیوانات در گروه‌های ۸تایی قرار داده شدند. تمام آزمایش-ها در زمان معینی از روز (ساعت ۸ -۱۴) انجام می‌گرفت.

دستگاه یادگیری اجتنابی مهاری (غیرفعال):

جعبه چوبی به ابعاد ۴۰×۳۰×۳۰ cm می‌باشد که در کف آن 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 cm در قسمت میانی کف دستگاه (روی میله‌های فلزی) قرار می‌گیرد. این میله‌ها به دستگاه تحریک کننده متصل شده و شوک الکتریکی از طریق آن‌ها به حیوانات مورد آزمایش وارد می-شود. آزمایش‌ها در اتاق نسبتا تاریک و بدون سر و صدا انجام شد.

داروها:

هردو داروی MCHL (Tocris, UK)، آگونیست گیرنده 5-HT_3، و اتانول (داروپخش، ایران) بلافاصله قبل از انجام آزمایش‌ها در محلول کلرید سدیم ۰/۹ درصد استریل حل می-شدند.

جراحی و کانول گذاری در ناحیه هیپوکامپ پشتی (CA1):

موش‌های کوچک آزمایشگاهی ابتدا توسط کتامین هیدروکلراید (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به‌علاوه زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) (Woerden, The Netherlands) بیهوش شده و سپس در دستگاه استریوتاکس قرار داده شدند. دو کانول راهنما (اندازه ۲۲ گیج) یک میلی‌متر بالاتر از محل تزریق، بر اساس اطلس پاکسینوس (۲۰۱۳) قرار داده شد. مختصات ناحیه CA1 هیپوکامپ جانبی AP=-۲، V=-۱/۵ و ML=±۱/۶ بود. بعد از قرار دادن کانول راهنما در مختصات مورد نظر، با استفاده از سیمان دندان‌پزشکی در جای خود محکم شدند. پس از جراحی و قبل از تزریق درون‌مغزی دارو داخل کانول‌ها، به حیوان ۵-۷ روز استراحت داده می‌شد تا استرس و تخریب بافتی احتمالی که توسط جراحی صورت گرفته است، از بین برود و حیوان به حالت عادی خود بر گردد [۲۸].

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-11]

آزمون‌های رفتاری:

روش یادگیری احترازی غیرفعال مدل Step-down روشی مورد قبول برای بررسی حافظه درازمدت در موش‌های کوچک آزمایشگاهی می‌باشد. در این روش، بررسی حافظه در دو روز متوالی و بین ساعت ۸ صبح تا ۲ بعدازظهر انجام می‌شود. روز اول روز آموزش دادن (Training Day) حیوان‌ها در دستگاه می‌باشد و در روز دوم یا روز آزمون (Testing Day)، میزان حافظه حیوان‌های آموزش دیده بررسی می‌شود.

مرحله آموزش:

در روز آموزش هر حیوان به آرامی روی سکوی مکعبی دستگاه ارزیابی حافظه قرار می‌گیرد و مدت زمان توقف روی سکو (قبل از پایین آمدن) ثبت می‌شود. در صورتی‌که هر موش بیش از ۲۰ ثانیه روی سکو بماند، از مطالعه حذف می‌شود. بلافاصله پس از پایین آمدن موش از مکعب چوبی و قرار گرفتن چهار پای آن روی میله‌های فولادی، شوک الکتریکی به‌مدت ۱۵ ثانیه (۱ هرتز، ۰/۵ ثانیه و ۴۵ میلی‌ولت مستقیم) به حیوان داده می‌شود. لازم به‌ذکر است که در یادگیری اجتنابی مهاری مدل Step-down حیوان در روز آموزش فقط یک‌بار در داخل دستگاه یادگیری اجتنابی قرار گرفته و فقط یک مرحله آموزش را دریافت می‌کرد.

مرحله آزمون یا بررسی حافظه:

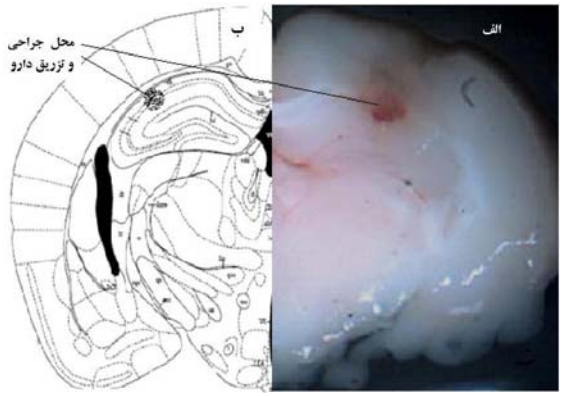
جلسه آزمون ۲۴ ساعت بعد از آموزش با روندی مشابه آموزش انجام می‌شود؛ با این تفاوت که حیوان مورد آزمایش در روز آزمون شوک دریافت نمی‌کند. مدت زمان توقف موش روی سکو در روز آزمون به‌عنوان معیار حافظه در موش اندازه‌گیری می‌شود. حداکثر زمان برای توقف موش روی سکو (زمان Cut-off) برابر ۳۰۰ ثانیه می‌باشد که به‌عنوان حافظه کامل در نظر گرفته می‌شود [۲۹].

تزریق درون‌مغزی دارو:

برای تزریق دارو پس از برداشتن سیم داخل کانول راهنما، سر سوزن اندازه ۲۷ دندان‌پزشکی که ۹ میلی‌متر طول داشت و به infant cat down tube (شماره ۴) و سرنگ همیلتون ۱ میکرولیتری متصل بود، در داخل کانل راهنما قرار داده شد و در هر کانول ۰/۵ میکرولیتر دارو در مدت تزریق ۹۰-۶۰ ثانیه تزریق شد. در حین تزریق به حیوان اجازه داده شد بدون هیچ استرسی آزادانه حرکت کند.

بافت شناسی:

پس از کشتن حیوان‌ها توسط کلروفرم، ۰/۵ میکرولیتر رنگ متیلن بلو ۱ درصد داخل هر کانول تزریق شد. سپس، مغز از درون جمجمه خارج گردیده و در محلول فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد. پس از یک هفته با استفاده از تیغ جراحی در محل کانول به درون مغز برش‌هایی داده شده و محل ورود کانول به مغز به‌وسیله میکروسکوپ لوپ مورد مطالعه قرار گرفت. جهت مطالعه مقاطع بافتی تهیه شده از اطلس پاکسینوس استفاده می‌شد (شکل شماره ۱).



شکل شماره ۱- عکس مقطع بافتی مربوط به کانول گذاری در ناحیه CA1 (الف) و شکل شماتیک برگرفته از اطلس پاکسینوس که ناحیه CA1 در آن مشخص شده است (ب).

تیمارهای دارویی و آزمایش‌های انجام شده:

آزمایش شماره ۱: بررسی تاثیر تزریق قبل از آموزش MCHL بر حافظه اجتنابی مهاری (نمودار Dose response):

گروه اول (شم): پنج دقیقه قبل از آموزش مقدار ۱ nl/mouse سالین را به‌صورت درون هیپوکامپی دریافت کردند؛ گروه‌های دوم، سوم و چهارم: پنج دقیقه قبل از آموزش مقدار MCHL ng/mouse ۰/۵، ۰/۰۵، ۰/۰۰۵ را به‌صورت درون-هیپوکامپی دریافت کردند.

آزمایش شماره ۲: بررسی تاثیر تزریق قبل از آزمون اتانول روی حافظه اجتنابی مهاری (نمودار Dose response):

گروه اول (شم): سی دقیقه قبل از آزمون مقدار ۱ mg/ml سالین را به‌صورت درون‌صفاقی دریافت کردند؛ گروه-های دوم، سوم و چهارم: سی دقیقه قبل از آزمون مقدار mg/kg ۱، ۰/۵، ۰/۲۵ اتانول را به‌صورت درون‌صفاقی دریافت کردند.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-11]

آزمایش شماره ۳: بررسی تاثیر تزریق درون‌هیپوکامپی قبل از آموزش دوزهای مختلف MCHL و تزریق درون‌صفاقی قبل از آزمون دوز موثر اتانول (۱ mg/kg) روی حافظه اجتنابی مهاری:

گروه اول: پنج دقیقه قبل از آموزش سالین (۱ µl/mouse) را به‌صورت درون‌هیپوکامپی دریافت کرده و ۳۰ دقیقه قبل از آزمون مقدار ۱ mg/kg اتانول را به‌صورت درون-صفاقی دریافت کردند؛ گروه‌های دوم، سوم و چهارم: پنج دقیقه قبل از آموزش MCHL ۰/۵ ng/mouse، ۰/۰۵، ۰/۰۰۵ را به-صورت درون‌هیپوکامپی دریافت کرده و ۳۰ دقیقه قبل از آزمون مقدار ۱ mg/kg اتانول را به‌صورت درون صفاقی دریافت کردند.

آزمایش شماره ۴: بررسی تاثیر تزریق درون‌هیپوکامپی قبل از آموزش دوز غیرموثر (۰/۰۰۵ ng/mouse) MCHL و تزریق درون‌صفاقی قبل از آزمون دوزهای مختلف اتانول روی حافظه اجتنابی مهاری:

گروه اول: پنج دقیقه قبل از آموزش MCHL (۰/۰۰۵ ng/mouse) را به‌صورت درون هیپوکامپی دریافت کرده و ۳۰ دقیقه قبل از آزمون مقدار ۱ mg/kg اتانول را به‌صورت درون‌صفاقی دریافت کردند؛ گروه دوم: پنج دقیقه قبل از آموزش MCHL ۰/۰۰۵ ng/mouse را به‌صورت درون‌هیپوکامپی دریافت کرده و ۳۰ دقیقه قبل از آزمون دوزهای مختلف اتانول (۱، ۰/۵، ۰/۲۵ mg/kg) را به‌صورت درون‌صفاقی دریافت کردند.

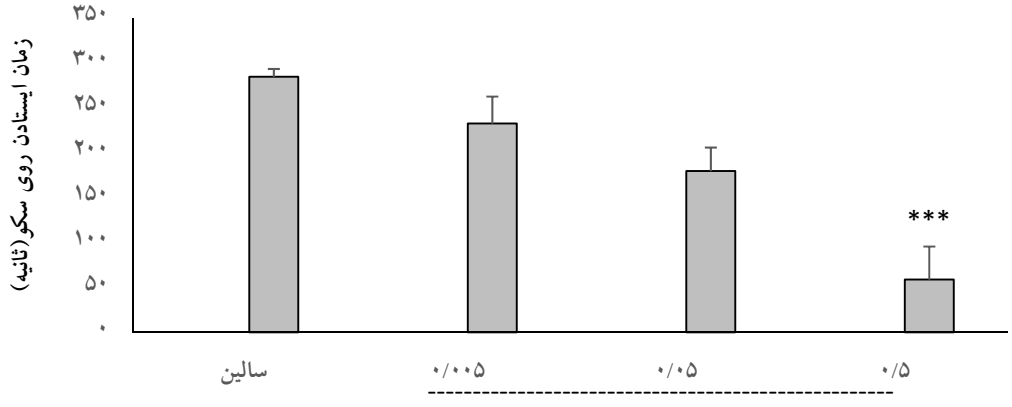
تجزیه و تحلیل آماری:

در همه آزمایش‌ها، زمان توقف حیوان روی سکو به‌صورت میانگین و انحراف معیار استاندارد ثبت گردید. داده‌ها توسط آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و پس‌آزمون Tukey آنالیز شدند. در تمام ارزیابی‌های آماری $P<۰/۰۵$ معیار معنی‌دار بودن مقایسه بین گروه‌ها بود. برای انجام محاسبات آماری از نرم‌افزار SPSS و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج

۱- بررسی اثر تزریق قبل از آموزش آگونیست گیرنده 5-HT_3 در پاسخ اجتنابی مهاری:

آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که تزریق قبل از آموزش MCHL حافظه اجتنابی مهاری را تغییر می‌دهد [$F_{۳/۲۸}=۱۱/۶۱$، $P<۰/۰۵$]. آنالیز مکمل توکی نیز نشان داد که تزریق قبل از آموزش MCHL ۰/۰۰۵ ng/mouse تأخیر در پایین آمدن از سکو یا میزان حافظه را در ۲۴ ساعت بعد کاهش می‌دهد (نمودار شماره ۱).



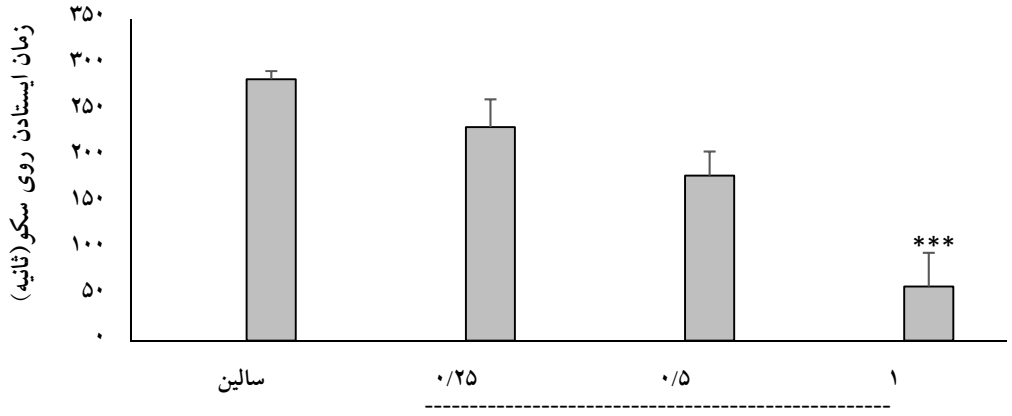
نمودار شماره ۱- بررسی اثر تزریق قبل از آموزش آگونیست گیرنده 5-HT_3 در پاسخ اجتنابی مهاری

هر ستون نمایانگر میانگین±خطای استاندارد مربوط به ۸ موش در هر گروه است. $P<۰/۰۰۱$*** در مقایسه با گروه سالین می‌باشد.

۲- بررسی اثر تزریق قبل از آزمون اتانول در پاسخ اجتنابی مهاری:

آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که تزریق قبل از آزمون اتانول حافظه اجتنابی مهاری را تغییر می‌دهد [$P<۰/۰۵$، $F_{(۳/۲۸=۱۲/۳۳}$]. آنالیز مکمل توکی نیز نشان داد که تزریق قبل از آزمون اتانول تاخیر در پایین آمدن از سکو یا میزان حافظه را در ۲۴ ساعت بعد کاهش می‌دهد (نمودار شماره ۲).

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-11]

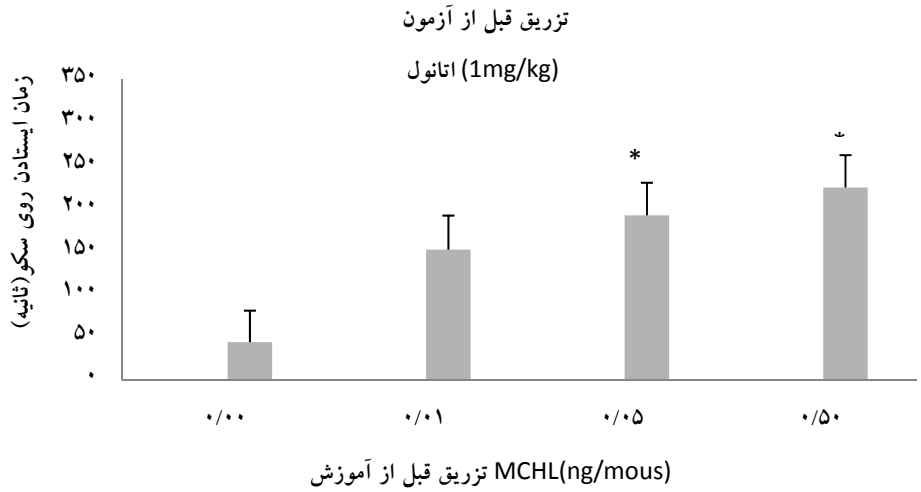


نمودار شماره ۲- بررسی اثر تزریق قبل از آزمون اتانول در پاسخ اجتنابی مهاری

هر ستون نمایانگر میانگین±خطای استاندارد مربوط به ۸ موش در هر گروه است. ۰/۰۰۱>P*** در مقایسه با گروه سالین می‌باشد.

۳- بررسی اثر تزریق درون‌صفاقی قبل از آزمون هم‌زمان دوز موثر اتانول (۱ mg/kg) و تزریق درون هیپوکامپی قبل از آموزش دوزهای مختلف MCHL:

آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که تزریق درون صفاقی قبل از آزمون دوز موثر اتانول (۱ mg/kg) هم‌زمان با تزریق پنج دقیقه قبل از آموزش دوزهای مختلف MCHL (۰/۵ ng/mouse، ۰/۰۵، ۰/۰۰۵) باعث بازگشت حافظه اجتنابی مهاری در روز آزمون می‌شود [F(۳/۲۸=۴/۲۵، P<۰/۰۵]. به‌علاوه، آنالیز مکمل توکی نشان داد که دوزهای غیرموثر MCHL باعث بازگشت حافظه اجتنابی تخریب شده توسط اتانول در روز آزمون می‌شوند (نمودار شماره ۳).



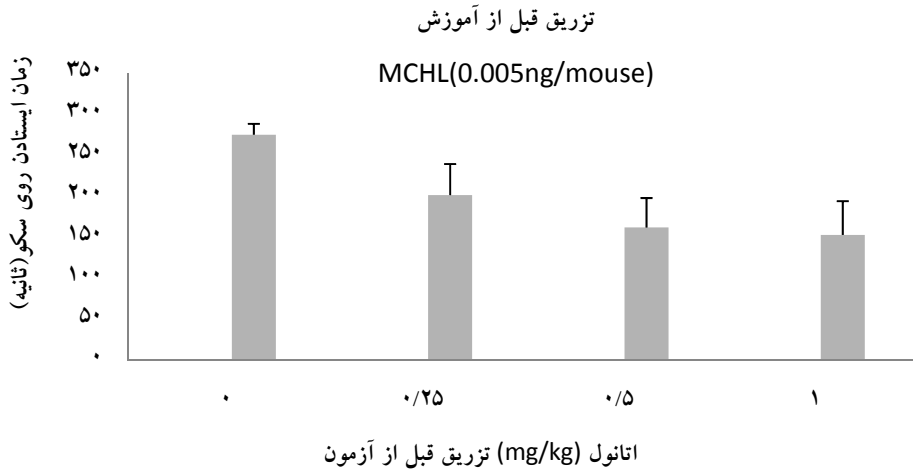
نمودار شماره ۳- بررسی اثر تزریق درون‌صفاقی قبل از آزمون دوز موثر اتانول (۱ mg/kg) هم‌زمان با تزریق درون‌هیپوکامپی قبل از آموزش دوزهای مختلف MCHL (۰/۵ ng/mouse، ۰/۰۵، ۰/۰۰۵).

هر ستون نمایانگر میانگین±خطای استاندارد مربوط به ۸ موش در هر گروه است. ۰/۰۵>P* در مقایسه با گروه سالین می‌باشد.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-11]

۴- بررسی اثر تزریق درون‌هیپوکامپی قبل از آموزش دوز غیرموثر MCHL همزمان با تزریق درون‌صفاقی ۳۰ دقیقه قبل از آزمون دوزهای متفاوت اتانول بر پاسخ اجتنابی مهاری:

آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که تزریق درون‌صفاقی قبل از آزمون دوزهای متفاوت اتانول (۱ mg/kg، ۰/۵، ۰/۲۵) همزمان با تزریق قبل از آموزش دوز غیرموثر MCHL (ng/mouse ۰/۰۰۵) باعث تخریب حافظه اجتنابی مهاری در روز آزمون می‌شود [F(۳/۲۸=۲/۶۸، P<۰/۰۵)]. آنالیز مکمل توکی نیز نشان داد که تزریق هم‌زمان دوز غیرموثر MCHL و دوزهای غیرموثر اتانول منجر به تخریب حافظه اجتنابی در روز آزمون شده که البته این تخریب معنی‌دار نمی‌باشد (نمودار شماره ۴).



نمودار شماره ۴- بررسی اثر تزریق درون هیپوکامپی قبل از آموزش همزمان دوز غیر موثر MCHL با تزریق درون صفاقی سی دقیقه قبل از آزمون دوزهای متفاوت اتانول (۱ mg/kg، ۰/۵، ۰/۲۵) در پاسخ اجتنابی مهاری.

هر ستون نمایانگر میانگین±خطای استاندارد مربوط به ۸ موش در هر گروه است.

بحث

در این مطالعه تاثیر تزریق دوطرفه آگونیست گیرنده 5-HT$_3$ در هیپوکامپ جانبی بر فراموشی القا شده توسط اتانول در موش‌های کوچک آزمایشگاهی بررسی شد. شواهد موجود نشان می‌دهد که اتانول باعث تخریب حافظه و یادگیری در جوندگان و انسان می‌شود [۴]. مطالعات نشان می‌دهد که اتانول بخش زیادی از اثر مخرب خود بر حافظه را از طریق اثر بر هیپوکامپ پشتی اعمال می‌نماید. اثر اتانول روی هیپوکامپ به‌قدری زیاد می‌باشد که حتی مصرف کوتاه‌مدت اتانول باعث تغییر نورفیزیولوژی هیپوکامپ می‌شود. شواهد موجود نشان می‌دهد که اتانول اثرات خود بر سیستم عصبی را با تاثیر مستقیم یا غیرمستقیمی که روی سیستم‌های نورترانسمیتری مختلف به‌ویژه استیل کولین، دوپامین و نورترانسمیتری‌های آمینواسیدی می‌گذارد، اعمال می‌نماید [۲۳]. با وجود تاثیرگذاری اتانول بر سیستم‌های نورترانسمیتری مختلف، به‌نظر می‌رسد که تاثیر اتانول روی سیستم کولینرژیک به‌ویژه در هیپوکامپ در میانجی‌گری اثرات مخرب اتانول روی حافظه نقش کلیدی دارد [۴]. در همین راستا مطالعات تجربی نشان‌دهنده این است که اتانول رهایش استیل کولین در هیپوکامپ را کاهش داده و باعث تخریب حافظه می‌شود [۵]. نکته جالب‌تر اینکه اتانول علاوه بر اینکه یک اثر مستقیم روی نورون‌های کولینرژیک مدار سپتو ـ هیپوکامپ داشته و باعث کاهش رهایش استیل کولین می‌شود، می‌تواند به‌واسطه تقویت پیام‌های گاباارژیک به‌صورت غیر-مستقیم نیز روی نورون‌های کولینرژیک مدار سپتو-هیپوکامپ اثر کرده و باعث کاهش رهایش استیل کولین در هیپوکامپ گردد [۵]. از طرف دیگر گفته شد که سیستم سروتونین نیز از مسیرهای کولینرژیک و گلوتاماترژیک عمل می‌کند [۲۳]. گیرنده‌های 5-HT$_3$ بر حافظه عاطفی و کاری تاثیر می‌گذارند. فعال سازی این گیرنده-ها بیان ژن‌های گیرنده پروتئینی خوشه‌ای GABA در آمیگدال را تغییر می‌دهد و پس از آن در هیپوکامپ موجب حذف یا کاهش ترس حاصل از عوامل زمینه‌ای می‌گردد و ممکن است موجب حذف خاطرات وحشتناک گردد [۳۰]. این نشان می‌دهد اختلالات احتمالی در انتقال دهنده عصبی GABA موجب اثرات مفید ناشی از گیرنده 5-HT$_3$ در حافظه گردد. گیرنده‌های 5-HT$_3$ مغز هم روی نواحی پیش‌سیناپسی و هم پس‌سیناپسی قرار دارند [۵].

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-11]

آگونیست 5-HT_3 (MCHL) از طریق تأثیر روی گیرنده‌های پیش‌سیناپسی منجر به تخریب حافظه می‌شود. در حالی که آنتاآگونیست آن (y-25130) از طریق گیرنده‌های پس‌سیناپسی عمل کرده و منجر به تخریب حافظه می‌شود [۳۱]. افزایش فعالیت گیرنده 5-HT_2 ناشی از مصرف زیاد الکل است که ممکن است به سندروم ترک الکل منجر شود و به‌دنبال آن الگوهای رفتاری که پس از ترک مصرف الکل پدید می‌آید، رخ دهد. به‌عنوان مثال، الکلی‌ها اغلب با افزایش سطح اضطراب پس از آخرین مصرف روبه‌رو هستند. این نشانه ترک ممکن است به‌علت افزایش فعالیت-های گیرنده‌های 5-HT_2 باشد؛ چراکه در مدل‌های حیوانی با مصرف الکل و مواد مخدری که موجب توقف فعالیت این گیرنده-ها می‌شود رفتارهای اضطرابی کاهش می‌یابند [۳۱]. اتانول با سیستم سروتونرژیک ارتباط بسیار نزدیکی دارد به‌طوری‌که مصرف حاد اتانول بر تولیدات سیناپسی سروتونین تاثیر می‌گذارد. در انسان پس از یک‌بار نوشیدن الکل سروتونین در خون و ادرار بالا می‌رود که این نشان دهنده آزاد شدن سروتونین از سیستم عصبی است [۳۱]. در مدل حیوانی نیز قرار گرفتن در معرض اتانول به-صورت حاد سطح سروتونین را در مغز بالا می‌برد که نشان‌دهنده آزاد سازی سروتونین از آکسون نورون‌های سروتونرژیک است [۳۲]. گیرنده‌های سروتونینی که اتانول روی آن‌ها تاثیر می‌گذارد عبارتند از: 5-HT_{1a}, 5-HT_{1b}, 5HT_2, 5-HT_3. در معرض قرارگرفتن حاد اتانول باعث افزایش سیگنال‌های الکتریکی تولید شده توسط نورون‌های سروتونرژیکی می‌شود که بر گیرنده‌های 5-HT_3 تاثیر می‌گذارد [۳۳]. با توجه به آزمایشات انجام یافته در تحقیق حاضر وقتی دوز غیر موثر اگونیست 5HT3(MCHL) به هیپوکامپ موش تزریق می‌شود و همزمان با آن دوز غیر موثر اتانول به صورت درون صفاقی به موش تزریق می‌شود حافظه اجتنابی مهاری تخریب می‌شود. ازآنجایی‌که این دو سیستم از نظر مکانیسم عمل مشابه هم هستند، اثر یکدیگر را تقویت کرده و منجر به تخریب حافظه در موش می‌شوند. شاید دلیل این تقویت یکی بودن سیستم‌های نوروترانسمیتری باشد که این دو از طریق آنها عمل می‌نمایند؛ یعنی هر دو باعث مهار آزاد سازی استیل کولین و یا باعث آزاد سازی GABA می‌شوند و در نتیجه با وجودی‌که هر دو دوز غیرموثر هستند اثر یکدیگر را تقویت کرده و باعث تخریب حافظه می‌شوند. با توجه به مطالعات انجام شده که در بالا به آنها اشاره شد و از آنجایی‌که مصرف اتانول منجر به آزاد سازی سروتونین در مغز می‌شود، شاید بتوان این‌گونه نیز پیشنهاد کرد که تزریق دوز غیرموثر اتانول منجر به آزاد سازی سروتونین در مغز موش‌ها شده و اثر متقابل این دو منجر به تخریب حافظه شده است. در بخش دیگری از این مطالعه مشاهده شد که تزریق دوزهای مختلف سروتونین همراه با دوز موثر اتانول منجر به بازگشت حافظه تخریب شده توسط اتانول می‌شود. این بازگشت حافظه به‌خصوص در دوزهای غیرموثر آگونیست سروتونین (۰/۰۵ ng/mouse، ۰/۰۰۵) بیشتر مشاهده شد. به‌نظر می‌رسد دوز موثر سروتونین همراه با دوز موثر اتانول باهم به‌صورت یک دوز غیرموثر عمل کرده و درواقع منجر به تخریب حافظه در روز آزمون نمی‌شوند و یا به‌عبارت دیگر منجر به بازگشت حافظه اجتنابی مهاری ایجاد شده توسط هریک از این دو می‌شود.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که در ناحیه CA1 هیپوکامپ گیرنده‌های سروتونینی و اتانولی وجود دارند که می-توانند اثر یکدیگر را تقویت کنند.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله مراتب تشکر خود راز کارشناس آزمایشگاه فیزیولوژی جانوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز، سرکار خانم دکتر جعفری، اعلام می‌داریم.

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.

[2] Azami NS, Piri M, Oryan S, Jahanshahi M, Babapour V, Zarrindast MR. Involvement of dorsal hippocampal alpha-adrenergic receptors in the effect of scopolamine on memory retrieval in inhibitory avoidance task. ***Neurobiol Learn Mem*** 2010; 93(4): 455-62.

[3] Schummers J, Browning MD. Evidence for a role for GABA (A) and NMDA receptors in ethanol inhibition of long-term potentiation. ***Brain Res Mol Brain Res*** 2001; 94(1-2): 9-14.

[4] Rezayof A, Alijanpour S, Zarrindast MR, Rassouli Y. Ethanol state-dependent memory: involvement of dorsal hippocampal muscarinic and nicotinic receptors. ***Neurobiol Learn Mem*** 2008; 89(4): 441-7.

[5] Henn C, Loffelholz K, Klein J. Stimulatory and inhibitory effects of ethanol on hippocampal acetylcholine release ***Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*** 1998; 357(6): 640-7.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-11]

[6] Roth BL. The serotonin receptors: from molecular pharmacology to human therapeutics: Springer Science & Business Media; 2008.
[7] 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.
[8] Rudissaar R, Pruus K, Skrebuhhova T, Allikmets L, Matto V. Modulatory role of 5-HT 3 receptors in mediation of apomorphine-induced aggressive behaviour in male rats. ***Behav Brain Res*** 1999; 106(1): 91-6.
[9] 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 Develop*** 2006; 28(8): 526-8.
[10] 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.
[11] 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.
[12] Chegini HR, Nasehi M, Zarrindast MR. 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.
[13] Naumenko VS, Kondaurova EM, Popova NK. Central 5-HT 3 receptor-induced hypothermia in mice: interstrain differences and comparison with hypothermia mediated via 5-HT 1A receptor. ***Neurosci Lett*** 2009; 465(1): 50-4.
[14] van Hooft JA, Yakel JL. 5-HT 3 receptors in the CNS: 3B or not 3B? ***Trends Pharmacol Sci*** 2003; 24(4): 160-57.
[15] Charnay Y, Léger L. Brain serotonergic circuitries. ***Dialogues Clin Neurosci*** 2010; 12(4): 471-87.
[16] Hannon J, Hoyer D. Molecular biology of 5-HT receptors. ***Behav Brain Res*** 2008; 195(1): 198-213.
[17] Castro L, De Castro-e-Silva E, Lima A, Souza F, Maldonado I, Macedo D, et al. Central 5-HT 4 receptors and drinking behavior. ***Pharmacol Biochem Behav*** 2000; 66(2): 443-8.
[18] Berumen LC, Rodríguez A, Miledi R, García-Alcocer G. Serotonin receptors in hippocampus. ***ScientificWorldJournal*** 2012; 2012: 823493.
[19] Faerber L, Drechsler S, Ladenburger S, Gschaidmeier H, Fischer W. The neuronal 5-HT 3 receptor network after 20 years of research—evolving concepts in management of pain and inflammation. ***Eur J Pharmacol*** 2007; 560(1): 1-8.
[20] Hoyer D, Clarke DE, Fozard JR, Hartig PR, Martin GR, Mylecharane EJ, et al. International Union of Pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (Serotonin). ***Pharmacol Rev*** 1994; 46(2): 157-203.
[21] Fakhfouri G, Rahimian R, Ghia JE, Khan WI, Dehpour AR. Impact of 5-HT 3 receptor antagonists on peripheral and central diseases. ***Drug Discov Today*** 2012; 17(13-14): 741-7.
[22] Buhot MC, Wolff M, Segu L. S. 15.03 Serotoninergic receptor subtypes in cognition. ***Eur Neuropsychopharmacol*** 2003; 13: S135-S6.
[23] Cassel JC. Experimental Studies on the Role of Serotonin in Learning and Memory Functions. ***Handbook Behav Neurosci*** 2010; 21: 429-47.
[24] Meneses A. Do serotonin 1–7 receptors modulate short and long-term memory. ***Neurobiol Learn Mem*** 2007; 87(4): 561-72.
[25] Meneses A. Stimulation of 5-HT 1A, 5-HT 1B, 5-HT 2A/2C, 5-HT 3 and 5-HT 4 receptors or 5-HT uptake inhibition: short-and long-term memory. ***Behav Brain Res*** 2007; 184(1): 81-90.
[26] Manuel-Apolinar L, Rocha L, Pascoe D, Castillo E, Castillo C, Meneses A. Modifications of 5-HT 4 receptor expression in rat brain during memory consolidation. ***Brain Res*** 2005; 1042(1): 73-81.
[27] 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.
[28] 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.
[29] 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.
[30] Ron D. Signaling cascades regulating NMDA receptor sensitivity to ethanol. ***Neuroscientist*** 2004; 10(4): 325-36.
[31] Pytliak M, Vargová V, Mechírová V, Felsöci M. Serotonin receptors-from molecular biology to clinical applications. ***Physiological Res*** 2011; 60(1): 15.
[32] Lal H, Prather PL, Rezazadeh SM. Alcoholism. ***Clin Exp Res*** 1993; 17(2): 411-7.
[33] 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*** 2013; 227(3): 553-66.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-11]