(مقاله پژوهشی)

بررسی نقش گیرنده نوع ۳- سروتونین در ناحیه CA1 هیپوکامپ مغز بر فراموشی ناشی از محرومیت ۶ ساعته از خواب متناقض REM (RSD) و خواب کلی(TSD)

زینب عیدی پور[۱*] محمد رضا زرین[۲] ، محمد ناصحی[۳]

۱-دکترای تخصصی زیست شناسی.
۲- استاد گروه علوم اعصاب.
۳- دانشیار گروه فیزیولوژی .

۱-دبیر آموزش و پرورش استان اصفهان، اصفهان، ایران.
۲- گروه علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۳- گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی قلهک، تهران، ایران.

*نویسندهٔ مسؤول:
زینب عیدی پور؛ دبیر آموزش و پرورش استان اصفهان، اصفهان، ایران.
تلفن: ۰۰۹۸۳۱۳۷۷۲۹۵۱۸
Email: aysen_gh@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: خواب یک حالت برگشت پذیر است که ظرفیت واکنش و تعامل با محیط را محدود می کند. گیرنده $5HT_3$ که بطور گسترده در ناحیه CA1 هیپوکامپ مغز بیان می شود، نقشی حیاتی در تنظیم خواب و تثبیت حافظه دارد. هدف این مطالعه بررسی تاثیر فعال سازی و غیرفعال سازی گیرنده 5HT3 به ترتیب با Y25130 و MCHL بر اختلال تثبیت حافظه تحت القای محرومیت از دو نوع خواب کلی (total sleep deprivation) وخواب متناقض REM sleep (deprivation) در موش صحرایی بود.

روش بررسی: موشهای صحرایی نر نژاد ویستار بطور تصادفی درپنج گروه هشت تایی قرارگرفتند:۱ -دو گروه دریافت کننده دوزهای موثر آگونیست و آنتاگونیست گیرنده 5HT3 ۲- شاهد TSD، ۳-با محرومیت از خواب TSD ۴- شاهد RSD ۵-با محرومیت از خواب RSD.

از تکنیک چندسکویی برای القای RSD و تکنیک واتر باکس برای القای TSD و آزمون اجتناب غیرفعال برای ارزیابی تثبیت حافظه استفاده شده است.

یافته ها: دوزهای ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ میلی گرم آگونیست گیرنده 5HT3 (MCHL) و دوز ۰/۱ میلی گرم آنتاگونیست گیرنده 5HT3 (Y25130) بدون محرومیت از خواب باعث کاهش معنی دار حافظه اجتنابی ($P<0.01$) شد. در حالی که MCHL با دوز۰/۱ و نیز Y25130 با دوزهای ۰/۱ و ۰/۰۱میلی گرم بطور معنی داری فعالیت حرکتی را افزایش دادند ($P<0.01$)، اما هر دو دارو درتمامی دوزها بر روی درد تاثیر معنی داری نداشتند. دوز زیر آستانه Y25130 فراموشی ناشی از TSD و RSD را بطور معنی داری برگرداند ($P<0.01$). در حالی که هر دو دارو در شرایط TSD و RSD تاثیر معنی داری بر فعالیت حرکتی را نشان ندادند. اما MCHL در شرایط RSD و Y25130 در شرایط TSD بطور معنی داری بی دردی را افزایش دادند ($P<0.01$).

نتیجه گیری: بر اساس یافته های این تحقیق بنظر میرسد گیرنده های 5HT3 در ناحیهCA1 هیپوکامپ نقش حیاتی در رفتارهای شناختی و غیر شناختی ایجاد شده بوسیله TSD و RSD بازی می کنند.

واژه‌های کلیدی: محرومیت از خواب، هیپوکامپ،MCHL،Y25130، حافظه،درد، فعالیت حرکتی.

دریافت مقاله: ۱۳۹۶/۷/۲۶ دریافت مقالهٔ اصلاح‌شده: ۱۳۹۶/۹/۲۲ اعلام قبولی: ۱۳۹۶/۱۱/۳

مقدمه

خواب یک ریتم بیولوژیک روزانه محسوب می گردد که به عنوان یک پدیده فراگیر بسیار مهم زیستی در تمامی مهره داران دیده می شود. مطالعات الکتروفیزیولوژیک نشان داده است خواب تنظیم کننده عملکرد نورون ها در طول ذخیره سازی حافظه است، بنابراین در حفظ سلامتی بسیار حائز اهمیت است. بطور کلی، خواب در پستانداران به دو نوع با حرکات سریع چشم (REM) و بدون حرکات چشم (Non-REM) تقسیم می شود(۱) ،که خواب Non-REM خود به چند مرحله تقسیم می شود(۲). خواب REM و Non-REM درفرایندهای شناختی از جمله حافظه و یادگیری بسیار مهم هستند (۳).

بنابراین عملکردهای شناختی (حافظه، تصمیم گیری، توجه و غیره) تحت تاثیر چندین فاکتور قرار دارند. یکی از این فاکتورها محرومیت از خواب است (۴). به عنوان مثال، براساس شواهد موجود بی خوابی برای یک شب به کاهش ۴۰-۳۰ درصد عملکرد شناختی در انسان می انجامد درحالیکه دو شب بیخوابی به کاهش ۷۰-۶۰ درصد عملکرد شناختی منجر خواهد شد (۵ , ۶). بنابراین محرومیت از خواب میتواندعملکرد شناختی مثل حافظه و یادگیری و فعالیتهای حرکتی را تحت تاثیر قراردهد (۷).

محرومیت از خواب باعث تغییرات عملکردی در برخی از نواحی سیستم عصبی درگیر در خواب مانند هسته های رافه سیستم سروتونرژیک و همچنین کاهش سطح نوروترانسمیترهایی چون سروتونین می گردد. نقش مهم سروتونین در تنظیم سیکلهای خواب و بیداری در تحقیقات متعددی به اثبات رسیده است. سروتونین از اسید آمینهٔ "تریپتوفان" ساخته می‌شود و به عنوان یکی از انتقال دهنده های عصبی مهم در سیستم عصبی مرکزی می باشد که چندین رفتار شناختی و غیر شناختی مانند خلق و خوی، اشتها، خواب، حافظه، احساسات را کنترل می کند (۸ , ۹). امروزه، حداقل ۱۵ گیرنده سروتونین پیش سیناپسی و پس سیناپسی شناسایی شده است. در میان آنهاگیرنده 5HT3 تنها گیرنده کانال های یونی با دریچه لیگاندی و بقیه گیرنده های سروتونین،از نوع گیرنده های جفت شده با G پروتئین می باشند (۱۰).

واضح‌ترین ناحیهٔ تحریک برای ایجاد خواب تقریباً طبیعی، "هسته‌های سجافی" در نیمهٔ تحتانی پل مغزی و در بصل‌النخاع است (۱۱, ۱۲). در پستانداران، مسیرهای سروتونرژیک از هسته رافه آغاز شده و فیبرهای صعودی سروتونرژیک به مناطق مختلف مغز (مانند کورتکس و هیپوکامپ) که در یادگیری و روندهای حافظه و خواب درگیر هستند، انشعاب می فرستد (۱۰, ۱۲).

هیپوکامپ، به ویژه ناحیه پشتی هیپوکامپ (CA ۱) از مهم ترین بخشهای مغزانسان و مهره داران مخصوصا پستانداران است و نقش مهمی در تبدیل حافظه کوتاه مدت به بلند مدت، ذخیره سازی و بازیابی حافظه در هیپوکامپ دارا هستند (۱۳). بررسی ها نشان داده اند که گیرنده های ۳-سروتونین در این نواحی بطور گسترده بیان می شوند (۱۴). سروتونین در تثبیت حافظه در حین خواب نقش مهمی ایفا می نماید بطوری که هنگام خواب REM ،تقویت طولانی مدت یا LTP القاء شده وحافظه تثبیت می گردد (۱۵).

در مقابل، محرومیت از خواب REM باعث اختلال در حافظه و LTP درناحیه CA1 هیپوکامپی مغز می شود (۱۵, ۱۶).

حال این سوال مطرح می شود که اگر محرومیت از خواب با کاهش روند عملکرد شناختی همراه است، چگونه می توان با آن مقابله کرد؟ برای رسیدن به این هدف، باید اثر مخرب محرومیت از خواب را بر مناطق مختلف مغز بررسی کرده و نقش فعال سازی مستقیم با مسدود کردن گیرنده های مختلف را در واکنش های القا شده با محرومیت از خواب مشخص سازیم. براین اساس، هدف ما در تحقیق حاضر شامل بررسی بیشتر مکانیسم های زیربنایی در اثر گیرنده ۳-سروتونین در ناحیه

CA1بر مشکلات تثبیت حافظه تحت القای محرومیت از خواب کلی (TSD) و محرومیت از خواب REM (RSD) است.

روش بررسی

حیوانات

در این مطالعه از۱۳۲ سرموش های صحرایی ویستاردر محدوده وزنی ۲۵۰-۲۲۰ گرم تهیه شده از مرکز مطالعات علوم شناختی تهران (ICSS) تهیه گردیدند. موش ها در اتاق حیوانات با دمای کنترل شده ۲۲±۲ درجه سانتیگراد و تحت چرخه نور/تاریکی ۱۲/۱۲ ساعته نگهداری شدند. دسترسی آزاد به آب و غذا فشرده مخصوص حیوانات به جز در طول دوره زمانی انجام آزمایش ،داشتند. در هر گروه ۸ سرموش صحرایی قرار داشت و هر موش صرفا یک بار تحت آزمایش قرار می گرفت. تست های رفتاری در طول فاز روشنایی از چرخه نور/تاریکی انجام می شد.

جراحی استریوتاکسیک

حیوانات با تزریق داخل صفاقی کتامین هیدروکلرید (۵۰mg/kg) به اضافه زایلازین (۵mg/kg) بیهوش شده و در دستگاه استریوتاکس قرار گرفتند. سپس، پوست سر برش خورده وسطح جمجمه تمیز شد. در ادامه، کانول راهنمای ۲۲ درجه (۰/۷ میلیمتر ضخامت) یک میلیمتر بالای محل مورد نظر تزریق براساس اطلس پاکسینوس و واتسون (بصورت دوطرفه) قرار گرفت (۴۷). مختصات استریوتاکتیک برای مناطق CA1 هیپوکامپ عبارت بود از AP: ۲- میلیمتر از برگما، L: ۱/۶± از محل خط میانی متصل کننده برگما و لامبدا و V: ۱/۵- میلیمتر از سطح جمجمه. کانول ها با پیچ استیل زنگ نزن عینک وآکریلیک دندانپزشکی تثبیت شدند. ۷-۵ روز برای بهبود موش ها از عمل جراحی در نظر گرفته شد تا عوامل بیهوشی نیز از بدن آنها خارج شود (۱۷, ۱۸).

دستگاه محرومیت از خواب کلی(واترباکس)

این دستگاه شامل یک مخزن آب ازجنس پلکسی گلاس شفاف است (۵۰ X ۳۰ X ۱۲۰ سانتیمتر) که به چهار جعبه مساوی (۵۰ X ۳۰ X ۳۰ سانتیمتر) تقسیم و دمای آب آن نیز در ۳۰ درجه سانتیگراد تنظیم شده است. در وسط هرجعبه، دو سکوی کوچک (۱۵ سانتیمتر قطر) با لبه ای به عمق ۳ میلیمتر کنار یکدیگر قرار می گیرند. حرکت سکوها بصورت مستقل و اتوماتیک انجام می شود. در موقعیت شروع، هر دو سکو اندکی در سطح آب غوطه گردند. سپس هر سکو به بالا و پایین سطح آب حرکت می کند و موش ها را وادار می سازد برای دوری از تماس با آب دائما در حرکت باشند. سرعت حرکت 1m/sاست. بنابراین، موش ها یاد می گیرند در تقاطع دو سکو بمانند و از سکوی در حال غرق شدن با حرکتی کوتاه به دیگری بروند. موش ها دسترسی آزاد به بطری های آب و سبدهای غذا دارند که همیشه در بالای جعبه قرار دارد. مشاهده رفتاری نوارهای ویدیویی در طول ۶ ساعت دوره محرومیت از خواب انجام شد (۱۹, ۲۰).

۲-۴.دستگاه محرومیت از خواب REM (چندسکویی)

در این مطالعه ما از روش چند سکویی (multiple platform) برای محرومیت از خواب REM استفاده شد. دراین روش موشها در یک محفظه استوانه ای با قطر ۱۰۰سامتی متر و ارتفاع ۱۴۴سانتی متر با ۸ سکوی کوچک شفاف از جنس پلکسی گلاس با قطر۶/۲سانتی متر برای گروههای محرومیت از خواب و۱۹سانتی متر قطر برای گروههای شاهد یا Sham که به حیوان اجازه بیداری و خواب REM را می داد، قرار گرفتند.سکوها بوسیله آب احاطه شدند. آب حدود ۲سانتی متر زیر سکوها قرار داشت. حیوانات روی این سکوهای کوچک قرار گرفتند، وقتی موشها وارد خواب REM می شدند ثبت EEG ، دامنه بالاتر و فرکانس کندتر در محدوده ۴-۷ هرتز را نشان می دهند.مشابه طرحی است که در حالت بیداری و هوشیاری و در مرحله ۱خواب مشاهده می گردد این وضعیت همان

وضعیتی است که اغلب خواب REM ، خواب متناقض است. که عضلات محوری گردن شل می شد و پوزه حیوان با آب تماس پیدا می کرد و باعث بیدار شدن آن می شد حیوانات می توانند از یک سکو به سکوی دیگر درون محفظه چندسکویی حرکت کنند.مدت زمان محرومیت از خواب REM ۶ ساعت در نظر گرفته شد(۲۱).

تزریق دارو داخل CA1

برای تزریق دارو، از سرنگ هامیلتون ۲میکرولیتر استفاده کردیم. مراحل تزریق بدین صورت بود که ابتدا هر حیوان را به آرامی توسط دست نگه داشته و با سوزن های تزریق اندازه ۲۷(۱ میلیمتر زیر راس کانول راهنما) جایگزین شد. محلول های تزریق بصورت دستی در حجم کلی ۱ میکرولیتر به ازای هر موش (۰/۵ μl در هر طرف مغز) طی دوره ۶۰ ثانیه ای انفیوژ شدند (۲۲, ۲۳)

دستگاه اجتناب مهاری بین مرحله ای

جعبه یادگیری شامل دو قسمت بود: روشن (رزین سفید مات، ۳۰ X ۲۰ X ۲۰ سانتیمتر) و تاریک (رزین سیاه مات، ۳۰ X ۲۰ X ۲۰ سانتیمتر). یک در کشویی (۷ X۹ سانتیمتر) روی کف و در مرکز پارتیشن بین دو قسمت در نظر گرفته شد. رشته سیمهای فولاد ضد زنگ (۲/۵ میلیمتر ضخامت) در فواصل ۱ سانتیمتری روی کف قسمت تاریک قرار گرفت تا شوک بر پا را ایجاد نماید. شوک های الکتریکی متناوب (۵۰ هرتز، ۳ ثانیه، شدت ۱mA) به کف شبکه قسمت تاریک از طریق تحریک کننده منتقل می شد (۲۲) (۲۴).

رویکردهای رفتاری

آموزش

آموزش براساس مطالعات قبلی انجام شد. هر حیوان به آرامی در قسمت روشن دستگاه قرار می گرفت؛ پس از ۵ ثانیه در کشویی باز شده و حیوان می توانست وارد قسمت تاریک شود. تاخیر ورود حیوان به قسمت تاریک ثبت می شد(زمان تاخیر اولیه یا Initial Latency). آزمون یادگیری ۳۰ دقیقه پس از آزمون خوگیری انجام می گرفت. حیوان را در قسمت روشن قرار داده و ۵ ثانیه بعد، در کشویی باز می شد. به محض عبور حیوان به بخش تاریک، در بسته شده و شوک الکتریکی خفیف (۵۰ هرتز، 1mA، ۳ ثانیه) بلافاصله به شبکه کف اتاق تاریک منتقل می گردید. پس از ۲۰ ثانیه، موش از دستگاه خارج شده و بطور موقت در قفس خود قرار می گرفت. دو دقیقه بعد، این رویکرد تکرار می شد. آموزش زمانی خاتمه می یافت که موش به مدت ۱۲۰ ثانیه متوالی در قسمت روشن باقی می ماند. تعداد آزمون ها (ورود به اتاق تاریک) ثبت گردید. تمامی حیوانات با حداکثر سه آزمون یاد گرفتند (۲۳, ۲۵, ۲۶).

تست بازیابی

۲۴ ساعت پس از آموزش، تست بازیابی برای تعیین حافظه طولانی مدت اجرا شد. این بخش تست هنگامی پایان یافت که حیوان وارد قسمت تاریک شد. زمان توقف ۳۰۰ ثانیه برای حیواناتی اعمال شد که در قسمت روشن باقی می ماندند. در طول این جلسات، شوک الکتریکی اعمال نمی شد(۲۴).

ارزیابی فعالیت عضلانی

دستگاه حرکات عضلانی (برج صنعت آزما، تهران، ایران) شامل مخزن پرسپکس شفاف (۳۰X۳۰X۴۰ سانتیمتر ارتفاع) بود. این دستگاه شامل پانل پرسپکس خاکستری (۲۰ X ۲۰ X ۲,۲ سانتیمتر ضخامت) با ۱۶ فتوسل که جعبه را به ۱۶ مربع با اندازه مساوی تقسیم می کند،می باشد. فعالیت عضلانی بصورت تعداد عبورها از یک مربع به دیگری طی ۵ دقیقه ارزیابی شد (۲۷).

دستگاه هات پلیت برای تست درد

دستگاه هات پلیت یک صفحه می باشد که به وسیله جریان الکتریسته داغ می شود. مو ش ها بعد از تزریق روی این صفحه که تا حد ۵۵ درجه سانتی گراد گرم می شود قرار گرفته و زمان شروع (صفر) مشخص می شود. به محض شرو ع لیسیدن دست ها یا تغییر

خاص در قدم گذاری مو ش ها، میزان تحمل پایه حیوان ثبت می گردد (۲۸).

داروها

داروهای مورد استفاده در این مطالعه شامل ام-کلروفنیل (M-CHL) (آگونیست گیرنده 5-HT3) و Y-25130 (آنتاگونیست گیرنده 5-HT3) از تاکریس (علوم زیستی تاکریس، بریتانیا) خریداری گردید. داروها بلافاصله قبل از تزریق در دوزهای µg/rat ۰/۰۰۰۱، ۰/۰۰۱ در محلول سالین نرمال حل شدندو با حجم ۰/۵ میکرولیتردر ناحیه CA1 تزریق شد.

تحلیل آماری

با توجه به توزیع نرمال داده ها و همگنی واریانس، نتایج بصورت میانگین $X^{-} \pm S.E.M$ نشان داده شد و با استفاده از تحلیل یک طرفه واریانس (ANOVA) ارزیابی شدند که بیانگر تفاوت احتمالی بین گروه آزمایش و گروه کنترل متناظر با آن بود. تحلیل یک طرفه ANOVA به منظور تحلیل تاثیرات مجزای تجویز (M- Chl) ، Y- 25130درون CA1 قبل از آموزش مورد استفاده قرار گرفت. تحلیل های بیشتر برای مقایسه دو گروه با استفاده از تست تعقیبی دانکن انجام گرفت. در تمامی مقایسه ها، $P<0.05$ بیانگر معنی داری آماری بود.

بررسی بافت شناسی برای تایید استقرار نوک کانول تزریق در مغز

با استفاده از مشاهده برشها در زیر استریومیکروسکوپ مکان های تزریق و محل استقرار کانولها در مناطق CA1 هیپوکامپ براساس اطلس پاکسینوس و واتسون مورد تائید قرار گرفت (۴۷).

طرح آزمایش

آزمایش۱: اثر اعمال داروهای ام-کلروفنیل (Mchl) و Y-25130 بصورت قبل آموزش در ناحیه CA1 بر تثبیت حافظه و گیرنده درد و روند فعالیت عضلانی درگروههای سالم بدون محرومیت.

در این آزمایش ۷ گروه حیوان شامل یک گروه کنترل جراحی شده ودریافت کننده نرمالین سالین (µ۱l /rat) و۳ گروه جراحی شده و دریافت *کننده* M-CHL با دوزهای (µg/rat ۰/۰۰۰۱،۰/۰۰۱،۰/۰۱) که دوز موثر برای آگونیست M-chl، (۰/۰۰۰۱)در نظر گرفته شد و ۳ گروه جراحی شده دریافت کننده Y-25130 با دوزهای (µg/rat ۰/۰۰۱،۰۱/۰۰۱،۱/۰،۰/۰) که دوز موثر برای آنتاگونیست Y-25130, ۰/۰۰۱ در نظر گرفته شد،بدون القای محرومیت از خواب مورد مطالعه قرار گرفت. تمامی داروها قبل از آموزش به منطقه CA1تزریق شدند.

آزمایش۲: اثرمحرومیت از خواب ۶ ساعت Non-REM بر تثبیت حافظه و گیرنده درد و روند فعالیت عضلانی در حضور و غیابM-CHL و Y-25130.

در این آزمایش،۶ گروه موش مورد استفاده قرار گرفتند، ۳ گروه به عنوان شاهد (Sha*m*) در نظر گرفته شد.که در این گروه تمامی حیوانات به مدت ۶ ساعت در دستگاه Non-REM (درحالیکه دستگاه خاموش و غیرفعال بود) خوابیدند.موشهای صحرایی گروه اول شامل گروه شاهد جراحی نشده و بدون دریافت داروبودند گروه دوم شاهد جراحی شده و دریافت کننده آگونیست M-chl (بادوز µg/rat ۰/۰۰۰۱) و گروه سوم شاهدجراحی شده و دریافت کننده آنتاگونیست Y-25130 (با دوز ۰,۰۰۱µg/ra*t*) بلافاصله بعد از تزریق داروها آموزش صورت گرفت.

۳ گروه دوم حیواناتی بودند که تحت تاثیر محرومیت از خواب ۶ ساعت Non-REM قرار گرفتند. گروه اول کنترل محرومیت جراحی شده با تزریق سالین نرمال (1µl/rat)، گروه دوم جراحی شده و دریافت کننده M-*chl* (۰,۰۰۰۱ µg/r*at*) گروه سوم جراحی شده و دریافت کننده Y-25130 (۰,۰۰۱µg/rat) مورد مطالعه قرار گرفتند.

آزمایش۳: اثرمحرومیت از خواب ۶ ساعتREM بر تثبیت حافظه و گیرنده درد و روند فعالیت عضلانی در حضور و غیاب M-chl و Y-25130.

در این مطالعه از ۶ گروه حیوان استفاده شد. در این آزمایش به ۳ گروه اول اجازه داده شد به مدت ۶ ساعت در دستگاه محرومیت از خواب REM بخوابند.موشهای صحرایی گروه اول کنترل جراحی نشده دریافت کننده سالین. و گروه دوم شاهد (Sham) دریافت *کننده* M-chl و گروه سوم شاهد دریافت *کننده* Y-25130 تقسیم شدند.

۳ گروه دوم حیوانات جراحی شده که به مدت ۶ ساعت ازخواب REM محروم شدندعبارت بودند از: گروه اول محرومیت دریافت کننده سالین نرمال ، گروه دوم محرومیت دریافت کننده (M-*chl*) ، گروه سوم محرومیت دریافت کننده (Y-25130).

یافته ها

اثرات Y-25130, Mchlبر روی حافظه اجتنابی و درد و فعالیت حرکتی بدون القای محرومیت.

تحلیل واریانس یک‌طرفه (*F*) و آزمون تعقیبی دانکن نشان دادندتزریق دوزهای(µg/rat ۰/۰۱، ۰/۰۰۱) اما نه (۰/۰۰۰۱µg/rat) Mchl در ناحیه CA1 در موشهای نرمال حافظه اجتنابی را کاهش می دهد [F (3, 28)=95.541, P<0.01;Fig.1,panel 1A]. در حالی که فقط دوز۰/۰۱ اما نه ۰/۰۰۱ و ۰/۰۰۰۱ میکروگرم فعالیت حرکتی را افزایش می دهد. [F(3, 28)=5.852, P<0.01;Fig.1,panel 1C].

و هیچ یک از دوزها ی مورد استفاده شده ی Mchlتغییری درپاسخ به درد ایجاد نکردند.

[F (3, 28)=3.031, P>0.05;Fig.1,panel 2A].

تحلیل واریانس یک‌طرفه (*F*) و آزمون تعقیبی دانکن نشان دادند در موشهای نرمال فقط تزریق دوز۰/۱ میکروگرم اما نه دوزهای ۰/۰۱ و۰/۰۰۱میکروگرم Y25130 باعث کاهش حافظه اجتنابی شد [F(3, 28) =19.378, P<0.001;Fig.1,panel 1B].در حالی که فقط دوزهای ۰/۱و۰/۰۱میکروگرم باعث افزایش فعالیت حرکتی شد [F(3, 28)=5.413 P<0.01;Fig.1, panel 3B]. اما تمامی دوزهای Y2513*0* در پاسخ به درد تغییر معنی داری ایجاد نکردند. [F(3, 28) =3.891;Fig.1,panel 2B]

براساس نتایج حاصل در این تحقیق دوزµg/rat۰/۰۰۰۱برای داروی MCHL و دوزµg/rat ۰/۰۰۱برای Y25130 بعنوان دوز زیر آستانه ای برای مراحل بعدی آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند.

اثرات محرومیت از خواب کلی(TSD)برروی حافظه اجتنابی،فعالیت حرکتی و پاسخ به درد در حضور و عدم حضور MCHL و Y25130.

نتایج آزمون t -تست نشان دادند که TSD بطور معنی داری حافظه اجتنابی راکاهش داده است. (t=3.414, p<0.01;Fig.2, panel 2A)،و موجب افزایش بی دردی شد (t=4.886, p<0.01;Fig.2, panel 2B)

در حالی که تغییری در فعالیت حرکتی ایجاد نکرد. (t=1. 092,;Fig.2, panel 3C).

تحلیل واریانس یک‌طرفه (*F*) و آزمون تعقیبی دانکن نشان دادندکه هر دو دارو در گروه شاهد تغییر معنی داری در حافظه اجتنابی در مقایسه با گروه کنترل نشان ندادند

[F (2,21)=2.803;Fig.2, panel 1A].

همچنین در پاسخ به درد تغییر معنی داری ایجاد نکردند [F (2,21)=1.844;Fig.2, panel 1B]. و همینطور در فعالیت حرکتی نیز تغییری ایجاد نکردند [F (2,21)=0.556;Fig.2, panel 1C].

تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که فقط داروی Y25130 توانست تخریب حافظه ناشی از محرومیت از خواب کلی (TSD) را برگرداند. [F (2, 21)=31.9,

P<0.01;Fig.2, panel 2A] و همینطور این دارو بی دردی ناشی از TSD را افزایش داده است. [F (2, 21)=4.924, P<0.05;Fig.2, panel 2B] در حالی که هر دو دارو تغییری در فعالیت حرکتی ایجاد نکردند

[F (2, 21)=1.532 ;Fig.2, panel 2C.] .

محرومیت از خواب متناقض (RSD) برروی حافظه اجتنابی و فعالیت حرکتی و پاسخ به درد در حضور و عدم حضور MCHL و Y25130.

نتایج آزمون t – تست نشان داد که RSD **بطور معنی داری** حافظه اجتنابی را کاهش می دهد. (t=10.107, p<0.01;Fig.3, panel 2A).اما در پاسخ به درد تغییری ایجاد نمی کند. (t=2.283, p>0.05;Fig.3, panel 2B). و همینطور در فعالیت حرکتی.(t=0.315;Fig.3, panel 3C)

تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که Y25130 , Mchl در گروههای شاهد در حافظه اجتنابی [F(2, 21)=0.022; Fig.3, panel 1A].و درپاسخ به درد [$F_{(2.21)}$=0.941.Fig.3, panel 1B]. و همچنین در فعالیت حرکتی [F (2, 21)=1.015. Fig.3, panel 1C] تغییری ایجاد نکردند.

بطور مشابه تحلیل واریانس یک‌طرفه تست حافظه ۶ساعت نشان داد که در گروه RSD فقط Y25130 تخریب حافظه ناشی از محرومیت از خواب متناقض (RSD) را بهبود می بخشد. [F (2, 21)=20.578. P<0.01;Fig.3, panel 2A].همچنین Y25130 اما نه MCHL باعث افزایش معنی داری فعالیت حرکتی می گردد. [F(2, 21)= 9.792, P<0.01. Fig.3, panel 2C) . در حالی MCHL نه Y25130 پاسخ به درد را افزایش می دهند. [F(21, 21)=4.393, P<0.05.Fig.3, panel 2B].

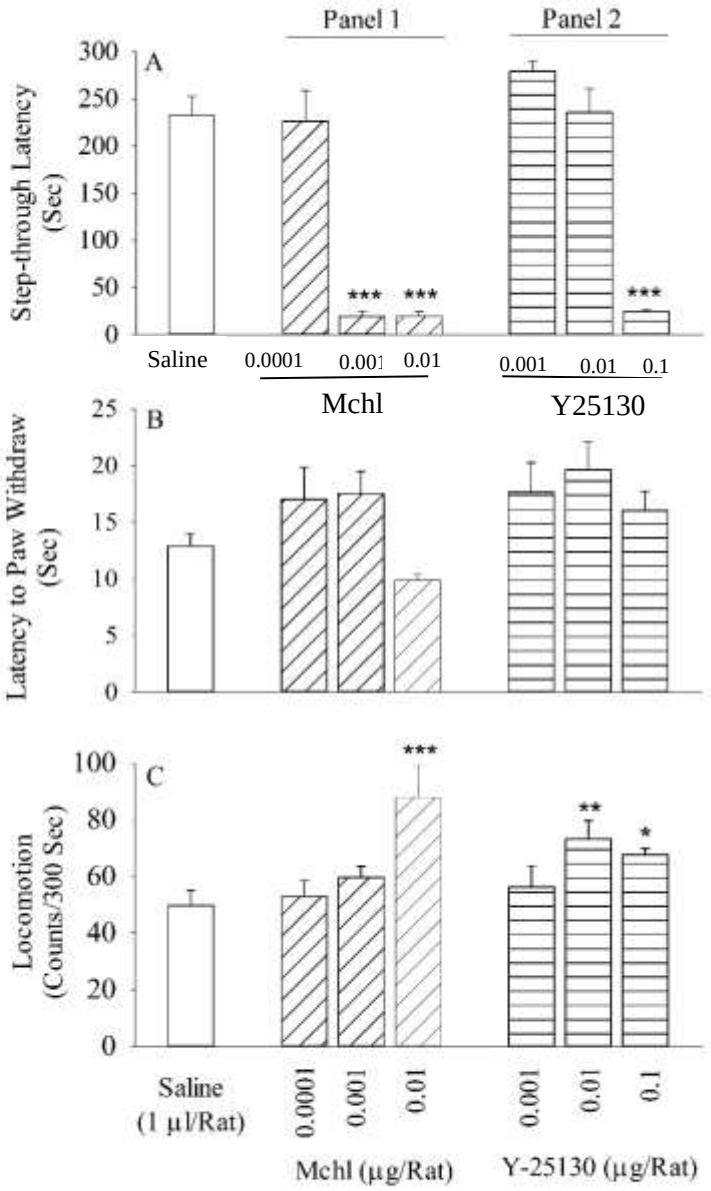

Fig.1

تصویر۱: تاثیر تزریق پری ترین Mchl (پانل۱) یا Y25130 (پانل۲) داخل CA1 بر حافظه اکتسابی (پانل A)، تست درد (پانل B) و فعالیت حرکتی (پانل C) در موش نرمال. داده ها بصورت میانگین ± S.E.M برای هشت گروه موش بیان شده است. P<0.05*، P<0.01 و p<0.001*** در مقایسه با گروه کنترل سالین.این نمودارها مربوط به تعیین دوز موثر دارو در حافظه ، تست درد و فعالیت حرکتی می باشد**

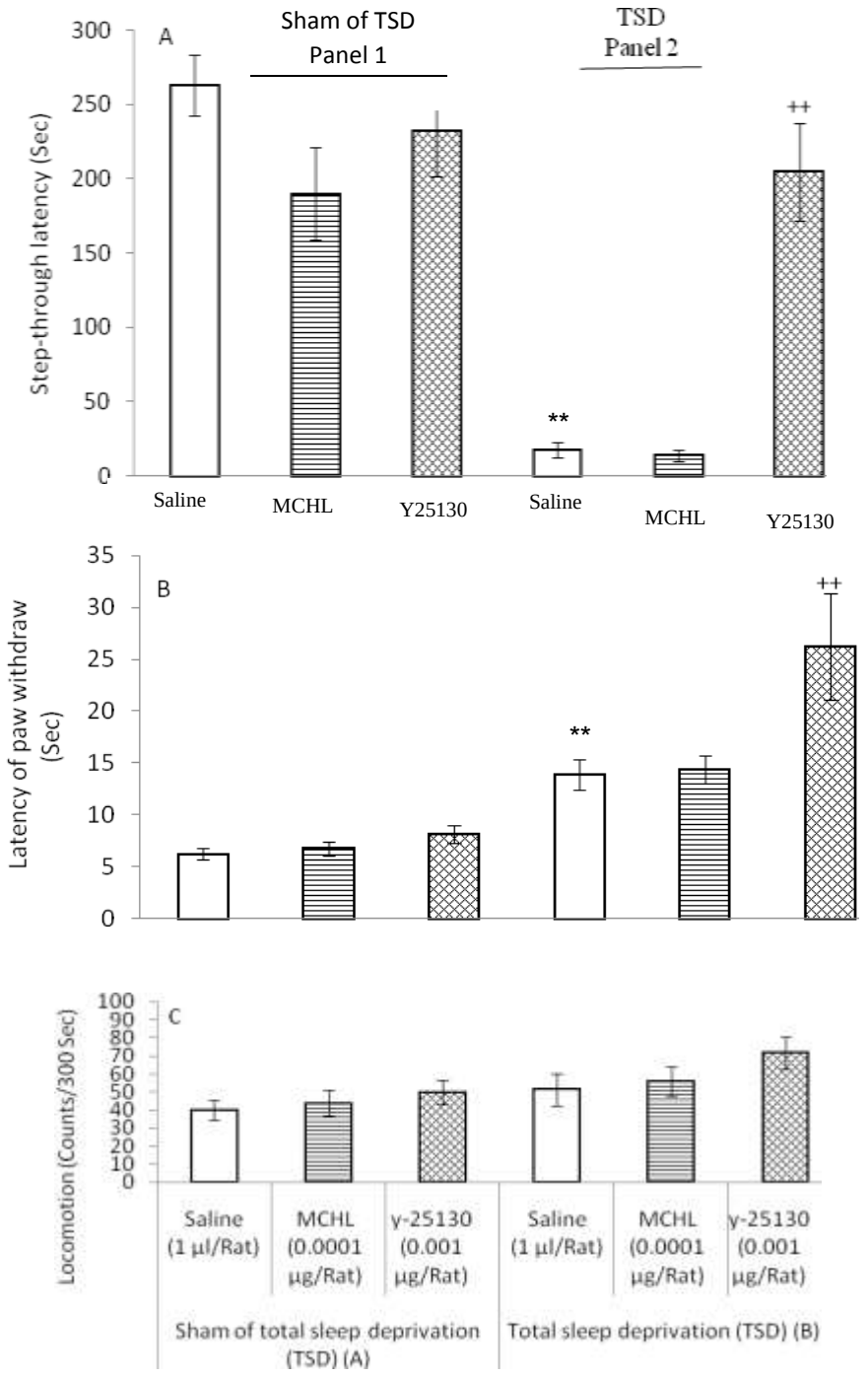

Fig2.

تصویر۲: تاثیر تزریق پری ترین Mchl یا Y25130 داخل منطقه CA1 بر حافظه اکتسابی (پانل A)، تست پاسخ درد (پانل B) و فعالیت حرکتی (پانل C) در موش های شاهد TSD (پانل۱) یا موشهای TSD (پانل۲). داده ها بصورت میانگین ± S.E.M برای هشت موش در هر گروه بیان شده است$P<0.05^{*}$و$P<0.01^{**}$، $P<0.001^{***}$ مقایسه شاهد/سالین با گروه کنترل TSD. P<0.05+، P<0.01++ و P<0.001+++ در مقایسه گروه کنترل سالین /TSD با گروههای TSD دریافت کننده MCHL و Y25130.

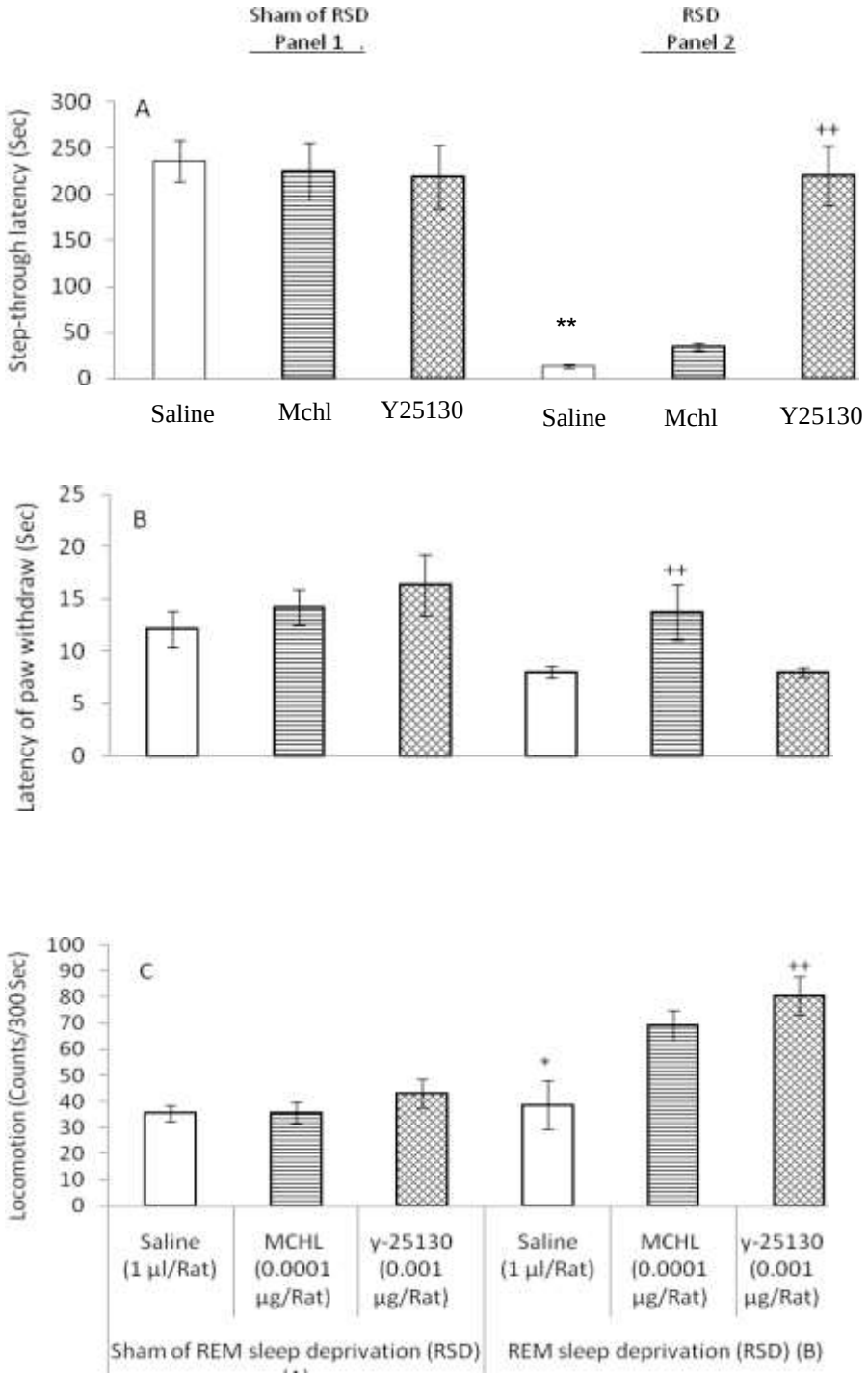

Fig3.

تصویر۳: تاثیر تزریق پری ترین Mchl یا Y25130 داخل CA1 بر حافظه اکتسابی (پانل A)، تست پاسخ به درد (پانل B) و فعالیت حرکتی (پانل C) در موش های شم RSD (پانل۱) یا RSD (پانل۲). داده ها بصورت میانگین ± S.E.M برای هشت رت در هر گروه بیان شده است. P<0.05 *و P<0.01 **، P<0.001 * در مقایسه شاهد/سالین باگروه کنترل RSD. P<0.05+، P<0.01++ و P<0.001+++ در مقایسه با گروه کنترل سالین /RSD با گروههای RSD دریافت کننده MCHL و Y25130.**

بحث

اثر TSD و RSD بر رفتارهای مطالعه شده.

نتایج تحقیق حاضرنشان داد که RSD و TSD با عث کاهش حافظه اجتنابی شد.ولی هردو دارو برفعالیت حرکتی بی تاثیرند.اما در TSD بی دردی افزایش پیدا کرد ولیRSD بر پاسخ به درد بی اثر بوده است. بنابراین، از دیدگاه کاربردی، محرومیت از خواب دارای اثری مخرب بر عملکرد شناختی بویژه بر توجه و حافظه فعال است اما اثر بیشتر بر کاهش عملکردهای دیگر از جمله حافظه طولانی مدت و تصمیم گیری نیز مشاهده می شود (۲۹-۳۱). نتایج قبلی نشان می دهند که RSD منجر به تخریب حافظه و LTP در منطقه CA1 هیپوکامپ می شود که با نتایج حاضر منطبق می باشد (۲۹). براساس گزارش ها، محرومیت از خواب کلی (TSD) ویژگیهای مخربی را در مدل حیوانی نشان می دهد که می توان از آن میان به اختلالات یادگیری و حافظه از جمله اجتنابی غیرفعال اشاره کرد(۳۲). با اینحال، مکانیسم اثر محرومیت از خواب روی حافظه به خوبی شناخته نشده است.

مطالعات پیشین نشان می دهند توانایی های حافظه در موش کاهش قابل توجهی پس ازمحرومیت ازخواب دارد و سطح بیان پروتئین درپروتیئن اتصالی به عناصر پاسخ دهنده به cAMP (CERB) در هیپوکامپ در این گروه به میزان قابل توجهی پایین تر از گروه کنترل است (۳۳). به این ترتیب، می توان گفت در گروه محرومیت از خواب از طریق مهار مسیرهای مولکولی خاص شامل سنتز پروتئین و تغییر در شکل پذیری سیناپسی هیپوکامپ مسئول اختلالات یادگیری، توانایی حافظه و همچنین شکل پذیری سیناپس ها می باشند(۳, ۳۴, ۳۵).

اثررفتاری عوامل مختلف برگیرنده های 5HT3

نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد که تزریق درون CA1 هر دو آگونیست و آنتاگونیست گیرنده 5HT3 باعث کاهش حافظه اکتسابی و افزایش فعالیت حرکتی در دوزهای بالامی شوند. در حالی که فقط MCHL پاسخ به درد در موشهای نرمال را در دوز بالا کاهش می دهد.

در راستای تحقیقات حاضر دکتر ناصحی و همکارانش (۲۰۱۴) نشان دادند که تزریق Mchl با دوزبالادر ناحیه قاعده ای – جانبی آمیگدال تغییری درحافظه و فعالیت حرکتی متعاقب محرومیت از خواب ایجاد نمی کند در حالی که تزریق Y-25130 با دوزبالا درون همین ناحیه باعث کاهش حافظه و فعالیت حرکتی می گردد (۱۰).

نتایج تحقیق حاضر نشان می دهد زمان فعال سازی یا غیرفعال سازی گیرنده های سروتونرژیک در CA1 نقشی حیاتی در مراحل مختلف شکل گیری حافظه شامل کسب، تثبیت و بازیابی داراست.

بر اساس مطالعه، دکتر ناصحی و همکاران تزریق M-CHLو Y25130 بصورت قبل از آموزش در ناحیه CA3 باعث تخریب حافظه اکتسابی شده اما بر روی فعالیت حرکتی بی تاثیر بوده است. مکانسیم اثر این گیرنده بر روی حافظه را میتوان اینگونه توجیه کرد که گیرنده های 5HT3 کانالهای یونی غیر انتخابی هستند و در اینترنورنهای گاباارژیک درقشر پره فرونتال حضور دارند. بنابراین فعالسازی آنها موجب جریان یونها ودر نتیجه دپلاریزه شدن سریع غشاء می شوند.بنظر می رسد که شاید ورود یونهای Ca از طریق گیرنده های 5HT3 موجب تسهیل آزادسازی گابا در این اینترنورنها شود. گیرنده 5HT3 با ایجاد پتانسیل پس سیناپسی مهاری (IPSP) و افزایش گابای مهاری در نورونهای پیرامیدال در هسته mPFC (قشر مغز قدامی)و موجب سرکوب تقویت حافظه بلند مدت (LTP) در مسیرهای هیپوکامپ–کورتکس پره فورنتال و تخریب در یادگیری و حافظه اجتنابی می شود (۳۶-۳۸).

اثرات فعال سازی و غیر فعالسازی گیرنده 5HT3 درون CA1 بر روی رفتارهای ناشی از محرومیت از خواب.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که از دو داروی MCHL و Y25130 فقط Y25130 می تواند تخریب حافظه ناشی از TSD را برگرداند. و همینطور بی دردی ناشی از TSD را افزایش داد. در حالی که هر دو دارو تغییری در فعالیت حرکتی ایجاد نکردند. همینطور در RSD فقط Y25130 توانست تخریب حافظه را بهبود ببخشد. و همینطور باعث افزایش فعالیت حرکتی شد. در حالی که صرفا MCHL موجب افزایش بی دردی ناشی از RSD شد.

این یافته ها نشان داد که ارتباط بین سطوح گیرنده های سروتونرژیک هیپوکامپ با فعالیت رفتاری موش ها ارتباطی برقرار است. سطوح خارج سلولی سروتونین در طول بیداری بالا و در طول خواب Non-REM پایین و در طول خواب REM در سطح پایین تری قرار دارد و با توجه به رخداد تثبیت وابسته به LTP حافظه در مرحله خواب REM و اینکه سروتونین از وقوع LTP در نورونهای درگیر در مراکز و مدارهای حافظه جلوگیری مینماید، بنابراین لازم است که سطح سروتونین و فعالیت سروتونرژیکی به صورت فیزیولوژیک در مرحله REM کاهش پیدا کند تا LTP القا شده، حافظه تثبیت گردد. محرومیت از REM این مکانیزم را مختل می نماید (۱۵).

به نظر میرسد خواب با برقراری بالانس نوروترانسمیتری در سیستمهای کولینرژیک، سروتونرژیک و دوپامینرژیک که از طریق آورانها هیپوکامپ را متاثر می سازند، امکان نوروژنز را فراهم می آورد (۳۹).

افزایش شلیک عصبی در طول محرومیت از خواب رخ می دهد. یک چنین افزایش درشلیک عصبی منجر به افزایش آزاداسازی سروتونین می شود بنابراین سطح خارج سلولی سروتونین افزایش می یابد و غلظت آن در هسته های رافه پشتی زیاد می شود (۴۰, ۴۱). در طی محرومیت از خواب حساسیت هسته رافه پشتی به اثرات مهاری بلاکرهای بازجذب مجدد سروتونین که شاید بعلت حساسیت زدایی یا تنظیم کاهشی اتورسپتورها در سیناپس دندریت جسم سلولی 5HT باشد،کاهش می یابد، در نتیجه آزادسازی سروتونین در نواحی مورد نظر افزایش می یابد (۴۰, ۴۲, ۴۳). ازآنجایی که گیرنده های سروتونین در نواحی مختلف مغز ازجمله قشرفرونتال و هیپوکامپ توزیع می شوند در نتیجه با بسیاری از نورونهای گلوتامات و گابا در این نواحی برهمکنش متقابل دارند (۴۴, ۴۵). گیرنده های سروتونین به واسطه نورونهای گابا بر روی گلوتامات اثر می گذارند، به این شکل که در هنگام محرومیت از خواب ازادسازی سروتونین افزایش می یابد، که این امر باعث تحریک آزادسازی گابا می شود، نوروترانسمیتر مهاری گابا اثر مهاری خود را برروی گلوتامات اعمال و آزادسازی گلوتامات مهار نموده در نتیجه مسیر سنتز PKA و بیان ژن مختل شده و نهایتا حافظه تخریب می شود.(۴۴-۴۶).

نتیجه گیری نهایی : با توجه به نتیجه تحقیق حاضر در TSD و RSD ، Y25130 تخریب حافظه ناشی از محرومیت از خواب را برمی گرداند که ممکن است Y25130 با کاهش اثر مهاری بلاکرهای بازجذب مجدد سروتونین بر روی هیپو کامپ، سنتز و آزادسازی سروتونین در هیپوکامپ را کاهش دهد و یا ممکن است این آنتاگونیست با بلاک کردن گیرنده سروتونین آزادسازی آن را کاهش داده ، کاهش آزادسازی سروتونین منجر به کاهش رهایش گابا، در نتیجه اثر مهاری گابا برروی گلوتامات برداشته شده و گلوتامات نفوذپذیری کانالهای کلسیم را افزایش داده و باعث راه اندازی آبشار آنزیمی PKA و سنتز پروتیین و بیان ژن می گردد و تخریب حافظه ناشی از محرومیت بهبود یافته و LTP شکل می گیرد. اما MCHL در طی محرومیت از خواب نتوانسته سطح سروتونین را کاهش دهد در نتیجه اثرات مهاری گابا، آبشار آنزیمی را مختل کرده و حافظه بهبود نیافت.

قدردانی

از همکاری جنابان آقای دکتر زرین دست و آقای دکتر ناصحی به خاطر ارشادات علمی ارزشمندشان و همچنین از گروه دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان تشکر و قدردانی مینمایم.

منابع

1-Colavito V, Fabene PF, Grassi-Zucconi G, Pifferi F, Lamberty Y, Bentivoglio M, et al. Experimental sleep deprivation as a tool to test memory deficits in rodents. Frontiers in systems neuroscience. 2013; 7- 106. Dec 13;7:106. PubMed PMID: 24379759.

2-Kim Y, Elmenhorst D, Weisshaupt A, Wedekind F, Kroll T, McCarley RW, et al. Chronic sleep restriction induces long-lasting changes in adenosine and noradrenaline receptor density in the rat brain. Journal of sleep research. 2015 Oct .۵۸-۵۴۹:(۵)۲۴;PubMed PMID: 25900125.

3-Graves L, Pack A, Abel T. Sleep and memory: a molecular perspective. Trends in neurosciences. 2001:237-43. PubMed PMID: 11250009.

4-Uschakov A, Grivel J, Cvetkovic-Lopes V ,Bayer L, Bernheim L, Jones BE, et al. Sleep-deprivation regulates alpha-2 adrenergic responses of rat hypocretin/orexin neurons. PloS one. 2011;3-4. PubMed PMID: 21347440.

5-Jones DG, Endsley MR. Sources of situation awareness errors in aviation. Aviation, space, and environmental medicine. 1996:507-12. PubMed PMID: 8827130.

6-Westcott KJ. Modafinil, sleep deprivation, and cognitive function in military and medical settings. Military medicine. 2005:333-5. PubMed PMID: 15916305.

7-van Hulzen ZJ, Coenen AM. Paradoxical sleep deprivation and locomotor activity in rats. Physiology & behavior. 1981:741-4. PubMed PMID: 7323178.

8- Albertazzi P. Noradrenergic and serotonergic modulation to treat vasomotor symptoms. The journal of the British Menopause Society. 2006:7-11. PubMed PMID: 16513016.

9-Fink KB, Gothert M. 5-HT receptor regulation of neurotransmitter release. Pharmacological reviews. 2007:360-417. PubMed PMID: 18160701.

10-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. Behavioural brain research. 2014:114-26. PubMed PMID: 24333573.

11-Raiteri M. Functional pharmacology in human brain. Pharmacological reviews. 2006 Jun;58(2):162-93. PubMed PMID: 16714485.

12-Ariel P, Ryan TA. New insights into molecular players involved in neurotransmitter release. Physiology. 2012:15-24. PubMed PMID: 22311967.

13-Hampson RE, Deadwyler SA. Cannabinoids reveal the necessity of hippocampal neural encoding for short-term memory in rats. The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience. 2000:8932-42. PubMed PMID: 11102504.

14-Meneses A. Stimulation of 5-HT1A, 5-HT1B, 5-HT2A/2C, 5-HT3 and 5-HT4 receptors or 5-HT uptake inhibition: short- and long-term memory. Behavioural brain research. 2007:81-90. PubMed PMID: 17692935.

15-Prince TM, Abel T. The impact of sleep loss on hippocampal function. Learning & memory. 2013:558-69. PubMed PMID: 24045505. Pubmed Central PMCID: 3768199

16-Hakki Onen S ,Alloui A, Jourdan D, Eschalier A, Dubray C. Effects of rapid eye movement (REM) sleep deprivation on pain sensitivity in the rat. Brain research. 2001:261-7. PubMed PMID: 11334806.

17-Zarrindast MR, Nasehi M, Pournaghshband M, Yekta BG. Dopaminergic system in CA1 modulates MK-801 induced anxiolytic-like responses. Pharmacology, biochemistry, and behavior. 2012:102-10. PubMed PMID: 22885281.

18-Naseri MH, Hesami-Tackallou S, Torabi-Nami M, Zarrindast MR, Nasehi M. Involvement of the CA1 GABAA receptors in MK-801-induced anxiolytic-like effects: an isobologram analysis. Behavioural pharmacology. 2014 Jun;25(3):197-205. PubMed PMID: 24710315.

19-Pierard C, Liscia P, Chauveau F, Coutan M, Corio M, Krazem A, et al. Differential effects of total sleep deprivation on contextual and spatial memory: modulatory effects of modafinil. 2011:399-405. PubMed PMID: 20883715

20-Pierard C, Liscia P, Philippin JN, Mons N, Lafon T, Chauveau F ,et al. Modafinil restores memory performance and neural activity impaired by sleep deprivation in mice. 2007:55-63. PubMed PMID: 17698177.

21-McDermott CM, Hardy MN, Bazan NG, Magee JC. Sleep deprivation-induced alterations in excitatory synaptic transmission in the CA1 region of the rat hippocampus. The Journal of physiology. 2006:553-65. PubMed PMID: 16322058. Pubmed Central PMCID: 1479879.
22-Khakpai F, Nasehi M, Zarrindast MR. The role of NMDA receptors of the medial septum and dorsal hippocampus on memory acquisition. Pharmacology, biochemistry, and behavior. 2016:18-25. PubMed PMID: 26780596.
23-Hosseini N, Nasehi M, Radahmadi M, Zarrindast MR. Effects of CA1 glutamatergic systems upon memory impairments in cholestatic rats. Behavioural brain research. 2013:636-45. PubMed PMID: 24050889.
24-Norozpour Y, Nasehi M, Sabouri-Khanghah V, Torabi-Nami M, Zarrindast MR. The effect of CA1 alpha2 adrenergic receptors on memory retention deficit induced by total sleep deprivation and the reversal of circadian rhythm in a rat model. Neurobiology of learning and memory. 2016:53-60. PubMed PMID: 27291858.
25-Nasehi M, Sahebgharani M, Haeri-Rohani A, Zarrindast MR .Effects of cannabinoids infused into the dorsal hippocampus upon memory formation in 3-days apomorphine-treated rats. Neurobiology of learning and memory. 2009:391-9. PubMed PMID: 19450698.
26-Najar F, Nasehi M, Haeri-Rohani SA, Zarrindast MR .The involvement of medial septum 5-HT1 and 5-HT2 receptors on ACPA-induced memory consolidation deficit: possible role of TRPC3, TRPC6 and TRPV2. Journal of psychopharmacology. 2015:1200-8. PubMed PMID: 26464456.
27-Nasehi M, Tabatabaie M, Khakpai F, Zarrindast MR. The effects of CA1 5HT4 receptors in MK801-induced amnesia and hyperlocomotion. Neuroscience letters. 2015:73-8. PubMed PMID: 25524640.
28-Nascimento DC, Andersen ML, Hipolide DC, Nobrega JN, Tufik S. Pain hypersensitivity induced by paradoxical sleep deprivation is not due to altered binding to brain mu-opioid receptors. Behavioural brain research. 2007:216-20. PubMed PMID: 17239968.
29-Durmer JS, Dinges DF. Neurocognitive consequences of sleep deprivation. Seminars in neurology. 2005:117-29. PubMed PMID: 15798944.
30-Versace F, Cavallero C, De Min Tona G, Mozzato M, Stegagno L. Effects of sleep reduction on spatial attention. Biological psychology. 2006:248-55. PubMed PMID: 15978717.
31-Alhola P, Polo-Kantola P. Sleep deprivation: Impact on cognitive performance. Neuropsychiatric disease and treatment. 2007;3(5):553-67. PubMed PMID: 19300585. Pubmed Central PMCID: 2656292.
32-Bridoux A, Laloux C, Derambure P, Bordet R, Monaca Charley C. The acute inhibition of rapid eye movement sleep by citalopram may impair spatial learning and passive avoidance in mice. Journal of neural transmission. 2013:383-9. PubMed PMID: 23053350.
33-Alhaider IA, Aleisa AM, Tran TT, Alkadhi KA .Sleep deprivation prevents stimulation-induced increases of levels of P-CREB and BDNF: protection by caffeine. Molecular and cellular neurosciences. 2011:742-51. PubMed PMID: 21338685.
34-Copinschi G. Metabolic and endocrine effects of sleep deprivation. Essential psychopharmacology. 2005;6(6):341-7. PubMed PMID: 16459757.
35-Longordo F, Kopp C, Mishina M, Lujan R, Luthi A. NR2A at CA1 synapses is obligatory for the susceptibility of hippocampal plasticity to sleep loss. The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience. 2009:9026-41. PubMed PMID: 19605640. Pubmed Central PMCID: 3849614.
36-Puig MV, Santana N, Celada P, Mengod G, Artigas F. In vivo excitation of GABA interneurons in the medial prefrontal cortex through 5-HT3 receptors. Cerebral cortex. 2004:1365-75. PubMed PMID: 15166106.
37-Turner TJ, Mokler DJ, Luebke JI. Calcium influx through presynaptic 5-HT3 receptors facilitates GABA release in the hippocampus: in vitro slice and synaptosome studies. Neuroscience. 2004;129(3):703-18. PubMed PMID: 15541891.
38-Amargos-Bosch M, Bortolozzi A, Puig MV, Serrats J, Adell A, Celada P, et al. Co-expression and in vivo interaction of serotonin1A and serotonin2A receptors in pyramidal neurons of prefrontal cortex. Cerebral cortex. 2004:281-99. PubMed PMID: 14754868.
39-Quinlan MG, Almey A, Caissie M, LaChappelle I, Radiotis G, Brake WG. Estradiol and striatal dopamine receptor antagonism influence memory system bias in the female rat. Neurobiology of learning and memory. 2013:221-9. PubMed PMID: 24036396.
40-Penalva RG, Lancel M, Flachskamm C, Reul JM, Holsboer F, Linthorst AC. Effect of sleep and sleep deprivation on serotonergic neurotransmission in the hippocampus: a combined in vivo microdialysis/EEG study in rats. The European journal of neuroscience. 2003:1896-906. PubMed PMID: 12752789.
41-Bjorvatn B, Gronli J, Hamre F, Sorensen E, Fiske E, Bjorkum AA, et al. Effects of sleep deprivation on extracellular serotonin in hippocampus and frontal cortex of the rat. Neuroscience. 2002;113(2):323-30. PubMed PMID: 12127089.
42-Kim EY, Mahmoud GS, Grover LM. REM sleep deprivation inhibits LTP in vivo in area CA1 of rat hippocampus. Neuroscience letters. 2005:163-7. PubMed PMID: 16039776.

43-Lopez-Rodriguez F, Wilson CL, Maidment NT, Poland RE, Engel J. Total sleep deprivation increases extracellular serotonin in the rat hippocampus. Neuroscience. 2003;121(2):523-30. PubMed PMID: 14522011.
44-Pehrson AL, Sanchez C. Serotonergic modulation of glutamate neurotransmission as a strategy for treating depression and cognitive dysfunction. CNS spectrums. 2014:121-33. PubMed PMID: 23903233. Pubmed Central PMCID: 3968911.
45-Gottlieb JP, Keller A. Intrinsic circuitry and physiological properties of pyramidal neurons in rat barrel cortex. Experimental brain research. 1997 Jun;115(1):47-60. PubMed PMID: 9224833.
46-Celada P, Puig MV, Artigas F. Serotonin modulation of cortical neurons and networks. Frontiers in integrative neuroscience. 2013;7-25. PubMed PMID: 23626526. Pubmed Central PMCID: 3630391.
47-Paxinos G., Watson,C., The rat brain in stereotaxic coordinates. (6th ed)2007, London, UK: Academic Press.

Evaluating of the Role of $5HT_3$ Serotonergic Receptors in Hippocampal CA_1 area on Pain, Memory and Motor Activity after 6 hours of REM and Total Sleep Deprivation

Zainab Eydipour[1*], Mohammad Reza Zarin [2], Mohammad Nasehi[3]

1-Ph.D. in Biology.
2-Professor of Neuroscience.
3-Associate Professor of Physiology.

1-Education Secretary of Isfahan Province, Isfahan, Iran.
2-Department of Neuroscience, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
3-Department of Physiology, Golhak University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

**Corresponding author:*
Zainab Eydipour; Education Secretary of Isfahan Province, Isfahan, Iran.
Tel: +983137729518
Email: aysen_gh@yahoo.com

Abstract

Background and Objectives: Sleep is a reversible state in which the capacity for reaction and interaction with the environment is limited and consciousness is lost. $5HT_3$ receptors are mainly expressed in hippocampus CA1 regions, plays a vital role in sleep regulation and memory consolidation. The present study aims to investigate the effects of activation and inactivation of serotonin $5HT_3$ receptor by use of 5HT3 agonist and antagonist (MCHL and Y25130) respectively on acquired memory impairment induced by total sleep deprivation and REM sleep deprivation in rat,

Subjects and Methods: Male Wistar rats were randomly assigned to five groups including eight rats: 1- Two groups receiving effective doses of 5HT3 receptor antagonist (MCHL) and agonist (Y25130); 2- TSD control group 3- With TSD sleep deprivation 4- RSD control groups 5- with RSD sleep deprivation. Water box apparatus was used to induce total sleep deprivation, multi-platform apparatus was applied to induce RSD. Passive avoidance memory test was used to evaluate memory consolidation.

Results: Doses of 0.01 and 0.001 μg MCHL and 0.1 μg Y25130 significantly reduced the acquired memory ($P < 0.01$). While MCHL at 0.1 and Y25130 at doses of 0.01 and 0.1 significantly increased motor activities ($P < 0.01$). However, both drugs did not significantly affect the pain at all tested doses. TSD and RSD- induced amnesia was improved significantly ($P < 0.01$) by Y25130 with sub- threshold dose. While both drugs had no significant effect on motor activity in TSD and RSD conditions ($P > 0.05$). But, MCHL under RSD conditions and Y25130 under TSD conditions significantly ($P < 0.01$) increased analgesia

Conclusion: It seems that CA1 $5HT_3$ receptor plays a critical role in cognitive and non-cognitive behaviors induced by TSD and RSD.

Keywords: Sleep deprivation, Hippocampus, MCHL, Y25130; Memory;Pain; Locomotive activity.

►*Please cite this paper as:*
Eydipour Z, Zarin MR, Nasehi M. Evaluating of the Role of $5HT_3$ Serotonergic Receptors in Hippocampal CA_1 area on Pain, Memory and Motor Activity after 6 hours of REM and Total Sleep Deprivation.Jundishapur Sci Med J 2018; 17(1):21-36.

Received: Oct 18, 2017 Revised: Dec 13, 2018 Accepted: Jan 23, 2018