

مقاله پژوهشی

اثرات برهم کنشی تزریق داخل هیپوکمپی سیتالوپرام با استروژن و پروژسترون بر روی حافظه اجتنابی غیر فعال و تعادل حرکتی در موش‌های صحرایی نر ویستار

نازنین زهرا روزخوش، همایون خزعلی^{*}، عبدالکریم حسینی

گروه علوم و زیست فناوری جانوری، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

پذیرش: ۱۰ شهریور ۱۳۹۹

دریافت: ۲۹ خرداد ۱۳۹۹

چکیده

زمینه و هدف: این مطالعه، اثر تزریق درون هیپوکمپی سیتالوپرام و هورمون‌های استروژن و پروژسترون و تاثیر آن‌ها در تثبیت حافظه و یادگیری اجتنابی غیر فعال و همچنین یادگیری مهارت‌های حرکتی بر روی موش‌های صحرایی نر ویستار مورد بررسی قرار می‌دهد.

روش‌ها: این مطالعه از نوع تجربی بوده که بر روی ۲۵ سر موش آزمایشگاهی صحرایی نر ویستار انجام شد. حافظه اجتنابی غیر فعال توسط دستگاه شاتل باکس و تعادل حرکتی توسط دستگاه روتارود سنجیده شد. موش‌ها به‌طور تصادفی در ۵ گروه، گروه ۱ (سالین) گروه ۲ سیتالوپرام (دوز ۲ نانومول) گروه ۳ سیتالوپرام (دوز ۲ نانومول) + استروژن (دوز ۱ نانومول) گروه ۴ سیتالوپرام (دوز ۲ نانومول) + پروژسترون (دوز ۱ نانومول) و گروه ۵ سیتالوپرام (دوز ۲ نانومول) + استروژن (دوز ۱ نانومول) + پروژسترون (دوز ۱ نانومول) دریافت کردند و به هر هیپوکمپ راست یا چپ حجم ۱/۵ میکرولیتر تزریق شد.

یافته‌ها: گروهی که سیتالوپرام دریافت کردند زمان تاخیر برای ورود به ناحیه تاریک و مجموع زمان حضور حیوان در اتاقک روشن افزایش یافته، نشان می‌دهد که سیتالوپرام حافظه اجتنابی غیر فعال را افزایش داده است ($p < 0.001$). هنگامی که سیتالوپرام همراه با هورمون‌های استروئیدی تزریق درون هیپوکمپی شدند افزایش قابل توجهی در یادگیری و حافظه موش ایجاد شد ($p < 0.01$). در تست تعادل حرکتی قبل از تزریق اختلاف معنی‌داری در بین گروه‌ها مشاهده نشد. پس از دریافت دارو در زمان‌های ۱، ۳ و ۲۴ ساعت تعادل حرکتی کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل دیده شد ($p < 0.01$).

نتیجه‌گیری: تزریق داخل هیپوکمپی سیتالوپرام باعث افزایش حافظه اجتنابی در موش‌های دریافت‌کننده این دارو می‌شود، از طرفی سیتالوپرام هنگامی که با استروژن و پروژسترون همراه می‌شود باعث کاهش تعادل می‌شود.

واژه‌های کلیدی: استروژن، پروژسترون، حافظه اجتنابی، سیتالوپرام، هیپوکمپ

مقدمه

مداخلات به درمان‌های غیردارویی (یعنی رفتاری) گسترش یافته است. یکی از عوامل شایع کاهش حافظه و تعادل افسردگی می‌باشد.

سیتالوپرام جدیدترین بازدارنده بازجذب سرتونین^۱ است که در سال ۲۰۰۲ معرفی شد که برای اختلالات افسردگی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۲]. به‌طور کلی، داروهای ضدافسردگی جدیدتر بهتر از داروهای ضدافسردگی سه‌حلقه‌ای و

حافظه به معنی یادآوری اطلاعات کسب شده است و یادگیری به معنی کسب اطلاعات می‌باشد. یادگیری و حافظه به علت انعطاف‌پذیری سیستم عصبی امکان‌پذیر می‌شود، انعطاف‌پذیری به معنی توانایی تغییر دادن ارتباطات سیناپسی و عملکرد نورون‌ها در پاسخ به تحریکات است [۱]. حافظه می‌تواند توسط یک عامل فراموشی کاهش یافته یا توسط تقویت‌کننده‌های حافظه تقویت شود. در آزمایشگاه، این مداخلات به‌طور معمول از نظر دارویی بوده است، که می‌تواند بر روی حافظه تعادلی هم اثر بگذارد اما در سال‌های اخیر دامنه

¹ Selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI)

حیوانات در شرایط فیزیکی به دوره روشنائی-تاریکی ۱۲ ساعته (شروع روشنائی از ۷ صبح) در دمای 22°C (± 2) و رطوبت (۵۰٪) قرار داشتند. این مطالعه توسط کمیته اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی در دانشگاه شهید بهشتی مورد تایید قرار گرفته است (IR.SBU.REC.1397.052).

جراحی استریوتاکسی

به منظور تزریق داروها در ناحیه هیپوکمپ، نیاز به دستگاهی جهت تعیین مختصات در مغز و کاشت کانول می‌باشد که به وسیله دستگاه استریوتاکسی انجام شد. برای ساخت کانول‌های راهنما از سر سرنگ‌های تزریقی به اندازه ۲۲ استفاده شد. حیوان وزن شد و داروی بیهوشی توسط سرنگ انسولینی تزریق گردید. جهت بیهوشی از مخلوطی از کتامین ۱۰٪ و زایلازین ۲٪ (به ازای هر کیلوگرم وزن موش، ۱۰۰ میلی گرم کتامین و ۱۰ میلی گرم زایلازین) که به صورت داخل صفاقی تزریق شد. پس از آن که حیوان به طور کامل بی‌هوش شد، محل جراحی توسط پنبه استریل خیس، مرطوب شده و به وسیله قیچی و ماشین اصلاح، تراشیده شد و توسط بتادین ضد عفونی شد. سپس رفلکس حیوان چک شد در صورت عدم مشاهده رفلکس، حیوان در دستگاه استریوتاکس قرار داده شد و عمل استریوتاکس انجام شد. برای تعیین مختصات کانول گذاری، ابتدا یک سوزن در بازوی نگهدارنده دستگاه قرارداده شد و مختصات هیپوکمپ از اطلس پاکسینوس و واتسون تعیین گردید. دستگاه در اصل از سه خط‌کش عمود برهم تشکیل شده است. که یک خط‌کش آن در جهت قدامی-خلفی: (-0.9) شاخص از برگما، میانی-جانبی: ($1/5$) ($\pm$) شاخص از خط میانی و نهایتاً سومین خط‌کش در جهت پشتی-شکمی: (۳) شاخص از سطح جمجمه، پس از تعیین دقیق محل، نقطه‌ای به نام برگما نوک پروب را توسط دستگاه روی برگما قرار داده و مختصات هر سه جهت را مشخص می‌کنیم. پس از تعیین مختصات دقیق با استفاده از مته دستی محل سوراخ گردید، و دو عدد پیچ عینک استریل به جمجمه متصل شد به نحوی که وارد بافت مغز نشود. مجموعه کانول راهنما و کانول تزریق در نگهدارنده دستگاه قرار داده شد و از قائم بودن آن اطمینان حاصل شد سپس سوزن را بر روی نقطه برگما قرار داده شده و مختصات برگما یادداشت شد مطابق مختصات قدامی-خلفی و میانی-جانبی به سطح سوراخ

اکسیدازهای مونوآمین تحمل می‌شوند که دلیل آن کاهش بخشی از عوارض جانبی آن است [۳]. در درمان افسردگی، سیتالوپرام نسبت به سایر مهارکننده‌های انتخابی بازگشت مجدد سروتونین دارای عملکرد بهتری است و همچنین سیتالوپرام می‌تواند بر روی حافظه اثرات مثبت بگذارد و آن را بهبود بخشد که این عمل را می‌تواند از طریق تحریک دوپامین نیز انجام دهد [۴].

عوامل دیگری که می‌توانند بر روی حافظه و همچنین تعادل تاثیرگذار باشند، استروژن و پروژسترون می‌باشد. استروژن در هیپوکمپ باعث اختلال در حافظه از طریق محافظت عصبی می‌شود، میزان نورون‌ها در هیپوکمپ با تغییر در هر یک از مولفه‌ها به طور مستقل یا به طور هماهنگ مشخص می‌شود دارو سیتالوپرام با افزایش در تکثیر سلولی، مستقل از هر گونه تغییر در بقای سلولی، میزان نورون‌ها را افزایش می‌دهد [۵]، بنابراین میزان استروژن در هیپوکمپ ممکن است به دوز و مدت زمان درمان بستگی داشته باشد [۶]. عامل دیگری که می‌تواند بر روی حافظه و تعادل تاثیرگذار باشد پروژسترون می‌باشد، پروژسترون یک هورمون استروئیدی است که نقش مهمی در روند تولید مثل بازی می‌کند. پروژسترون قبلاً در سال ۱۹۳۵ برای اولین بار سنتز شد. پروژسترون روند حافظه بلندمدت را بهبود می‌بخشد [۷]. نتایج نشان می‌دهد که اثرات پروژسترون در هیپوکمپ به دوز و مدت زمان درمان بستگی دارد [۸]. هدف از این مطالعه اثرات برهمکنشی تزریق داخل هیپوکمپی سیتالوپرام با هورمون‌های استروژن و پروژسترون بر روی حافظه اجتنابی غیرفعال و تعادل حرکتی در موش‌های صحرایی نر ویستار بود.

مواد و روش‌ها

حیوانات و اخلاق

مطالعه حاضر نوعی مطالعه تجربی بوده که بر روی ۲۵ سر موش نر ویستار با وزن ۲۵۰-۲۲۰ گرم انجام گرفت. با هدف تطبیق حیوانات با محیط و عدم ایجاد استرس و ترس ناشی از جابجایی به مدت یک هفته قبل از شروع به موش خانه آزمایشگاه شهید بهشتی منتقل شدند و با حیوانات مطابق با موازین بین‌المللی اخلاق کار انجام شد و آب و غذای مخصوص به میزان کافی در اختیار حیوانات قرار گرفت. در طول پروژه

قبل از شروع آزمایش در محیط آزمایشگاهی قرار داده می‌شوند در این مرحله، ابتدا حیوان در اتاق روشن قرار می‌گیرد سپس بعد از ۱۰ ثانیه درب گیوتین باز شده و حیوان وارد اتاق تاریک می‌گردد. مرحله دوم اکتساب: ۳۰ دقیقه بعد موش مجدداً در محفظه روشن قرار می‌گیرد و بعد از ۱۰ ثانیه درب گیوتینی باز می‌شود و به محض اینکه حیوان وارد محفظه تاریک شد درب گیوتینی بسته شده و پس از ۵ ثانیه، از طریق میله‌های کف محفظه به حیوان شوک داده می‌شود (۵۰ هرتز، ۱ میلی آمپر، ۲ ثانیه). بعد از گذشت ۲۰ ثانیه، موش به قفس بازگردانده می‌شود. ۲ دقیقه بعد، بار دیگر حیوان در محفظه روشن قرار داده می‌شود؛ اگر حیوان دوباره وارد محفظه سیاه شد، مجدداً شوک می‌گیرد، اما اگر یادگیری داشت و تا ۲ دقیقه وارد محفظه تاریک نشد آزمون خاتمه داده می‌شود و موش به قفسش بازگردانده می‌شود. در صورت عدم یادگیری، این مرحله چندین بار تکرار می‌شود. در این مرحله، تعداد دفعاتی که پس از طی آن موش یاد می‌گیرد که به محیط تاریک وارد نشود یادداشت می‌شود. مرحله سوم بازیابی خاطره: ۲۴ ساعت بعد از آموزش، آزمون بازیابی انجام می‌شود تا حافظه بلندمدت حیوان بررسی شود. همه آزمایشات مربوط به دستگاه شاتل باکس، در محیط آزمایشگاهی و بدون سر و صدا انجام گرفت.

تست روتارود

دستگاه روتارود مسیری آسان را برای بررسی تاثیرات داروها و سنجش مقاووت حرکتی و حفظ تعادل و سنجش حافظه تعادلی را فراهم می‌کند. این دستگاه مجهز به زمان خودکار بوده و حسگر سقوط می‌باشد. موش‌ها روی محور دستگاه قرار می‌گیرند و سپس محور دستگاه روتارود می‌تواند بین ۴-۴۰ دور بر دقیقه تنظیم گردد. تست روتارود و تعادل حرکتی به این دلیل انجام شد تا تاثیر جانبی این مواد و داروها نیز بررسی شوند. این که آیا دارو علاوه بر داشتن اثرات بهبود حافظه اثرات جانبی بر روی تعادل نیز می‌گذارد یا خیر؟ هرگاه حیوان نتواند تعادل خود را حفظ کند و سقوط کند زمان مقاومت حرکتی یا همان تحمل جانور برای حفظ تعادل روی دستگاه روتارود به طور اتوماتیک ثبت می‌شود و در صفحه نمایش، نشان داده می‌شود. ابتدا به هر حیوان سه بار فرصت برای عادت و تطابق با دستگاه داده می‌شود سپس با فاصله زمانی ۱، ۳ و ۲۴ ساعت، که هر

ایجاد شده و از سطح مجمله به آرامی تا رسیدن به مختصات پستی-شکمی نهایی پائین برده شد. سپس سیمان دندانپزشکی آماده گردید و به اطراف کانول، تا کانول ثابت شود. سپس سیم نازک فولادی (ماندرل) را در کانول قرار داده و موش را به قفس انتقال داده شد. در پایان جراحی، به هر موش، پنی سیلین جهت جلوگیری از عفونت به صورت عضلانی تزریق شد و حیوان به قفس انفرادی منتقل شد.

گروه‌بندی و دوزهای تزریقی

بعد از یک هفته دوره‌ی بهبودی، تزریق درون هیپوکمپی از طریق کانول تزریق انجام شد و از طریق سرنگ هامیلتون (۵ میکرولیتر) به روش ریزتزریق^۲ جهت تزریق دارو به داخل هیپوکمپ استفاده شد. گروه‌های تزریقی بدین شرح بود گروه ۱ (سالین)، گروه ۲ (سیتالوپرام)، گروه ۳ (سیتالوپرام + استروژن)، گروه ۴ (سیتالوپرام + پروژسترون) و گروه ۵ (سیتالوپرام + استروژن + پروژسترون) به صورت دوطرفه دریافت کردند. دوزهای سیتالوپرام (۲ نانومول)، استروژن (۱ نانومول) و پروژسترون (۱ نانومول) براساس کارهای قبلی انتخاب شد [۹-۱۱] و به هر هیپوکمپ راست یا چپ حجم نهایی ۱/۵ میکرولیتر و در مدت زمان ۱ دقیقه به هر هیپوکمپ تزریق شد، سپس تست‌های رفتاری مورد ارزیابی قرار گرفت.

تست حافظه

این آزمایش بر اساس کار قبلی در این زمینه انجام شد [۱۲]. در این آزمایش دستگاه شاتل باکس جهت سنجش حافظه اجتنابی غیرفعال حیوان استفاده شد. جعبه دارای اتاقک روشن و دیگری تیره‌رنگ می‌باشد. کف هر دو جعبه از میله‌های فلزی موازی به قطر ۲/۵ میلی‌متر و به فاصله ۸ میلی‌متر از هم (که از طریق آن‌ها در صورت لزوم شوک الکتریکی اعمال می‌گردد) تشکیل شده است. درب گیوتین‌مانندی که دو جعبه را به هم مرتبط می‌کند. دستگاه کنترل‌کننده شوک قابل برنامه‌ریزی با شدت فرکانس و مدت مشخص از طریق میله‌های فلزی به کف پای حیوان می‌توان اعمال نمود. طی سه مرحله زیر حیوان آموزش می‌بیند که برخلاف غریزه باید از رفتن به اتاق تاریک اجتناب کند. مرحله اول عادت: همه موش‌ها حداقل ۳۰ دقیقه

² Microinjection

کردند مجموع زمان حضور حیوان در اتاقک روشن افزایش یافته است. در گروهی که سیتالوپرام دریافت کرده‌اند نسبت به گروه کنترل معنی‌دار است ($p < 0/01$). همچنین شاخص در سه گروهی که به ترتیب سیتالوپرام + استروژن، سیتالوپرام + پروژسترون، سیتالوپرام + استروژن + پروژسترون افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل مشاهده شد ($p < 0/001$).

اثر سیتالوپرام و هورمون‌های استروئیدی بر روی تعادل حرکتی

در نمودار ۲ الف نتایج تست روتارود در زمان قبل تزریق تعادل حرکتی را نشان می‌دهد که هیچ‌یک از گروه‌ها دارویی دریافت نکرده‌اند. زمان مقاومت حرکتی برای همه‌ی گروه‌ها در یک محدوده زمانی ثابت و مشترک بود و تفاوت معنی‌داری میان گروه‌های مختلف دیده نمی‌شود. در نمودار ۲ ب نشان‌دهنده‌ی تست تعادل حرکتی حیوان یک ساعت بعد از تزریق گروه‌های دارویی می‌باشد. با توجه به این نمودار تعادل حرکتی حیوان در همه گروه‌ها نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌دار به صورت ($p < 0/01$) را نشان می‌دهد. تست تعادل حرکتی، یک ساعت بعد از تزریق در گروه دریافت‌کننده سیتالوپرام نسبت به سایر گروه‌ها، کاهش کمتری داشته است. در نمودار ۲ ج در ۳ ساعت پس از تزریق زمان مقاومت در حفظ تعادل حرکتی افزایش یافته در سه گروهی که، سیتالوپرام + استروژن، سیتالوپرام + پروژسترون، سیتالوپرام + استروژن + پروژسترون دریافت کردند اختلاف معنی‌داری میان گروه دریافت‌کننده سیتالوپرام و گروه کنترل مشاهده شد ($p < 0/001$). همچنین، اختلاف معنی‌داری میان سه گروه دریافت‌کننده سیتالوپرام به همراه استروئیدها مشاهده شد ($p < 0/01$). در نمودار ۲ د در ۲۴ ساعت پس از تزریق زمان مقاومت حرکتی در حفظ تعادل حرکتی به نسبت کمی کاهش یافته است. و در سه گروهی که به ترتیب سیتالوپرام + استروژن، سیتالوپرام + پروژسترون، سیتالوپرام + استروژن + پروژسترون زمان حفظ مقاومت در حدود کنترل می‌باشد. اختلاف معنی‌داری میان گروه دریافت‌کننده سیتالوپرام و گروه کنترل مشاهده شد ($p < 0/05$) همچنین اختلاف معنی‌داری میان سه گروه سیتالوپرام + استروژن، سیتالوپرام + پروژسترون، سیتالوپرام + استروژن + پروژسترون مشاهده شد ($p < 0/01$).

زمان سه بار حیوان روی دستگاه قرار می‌گیرد و میانگین زمان به دست آمده در بازه‌های زمانی محاسبه می‌شود و به‌عنوان شاخص تعادل و مهارت حرکتی حیوان ثبت می‌گردد. مرحله بازیابی ۲۴ ساعت بعد از تزریق ارزیابی شد.

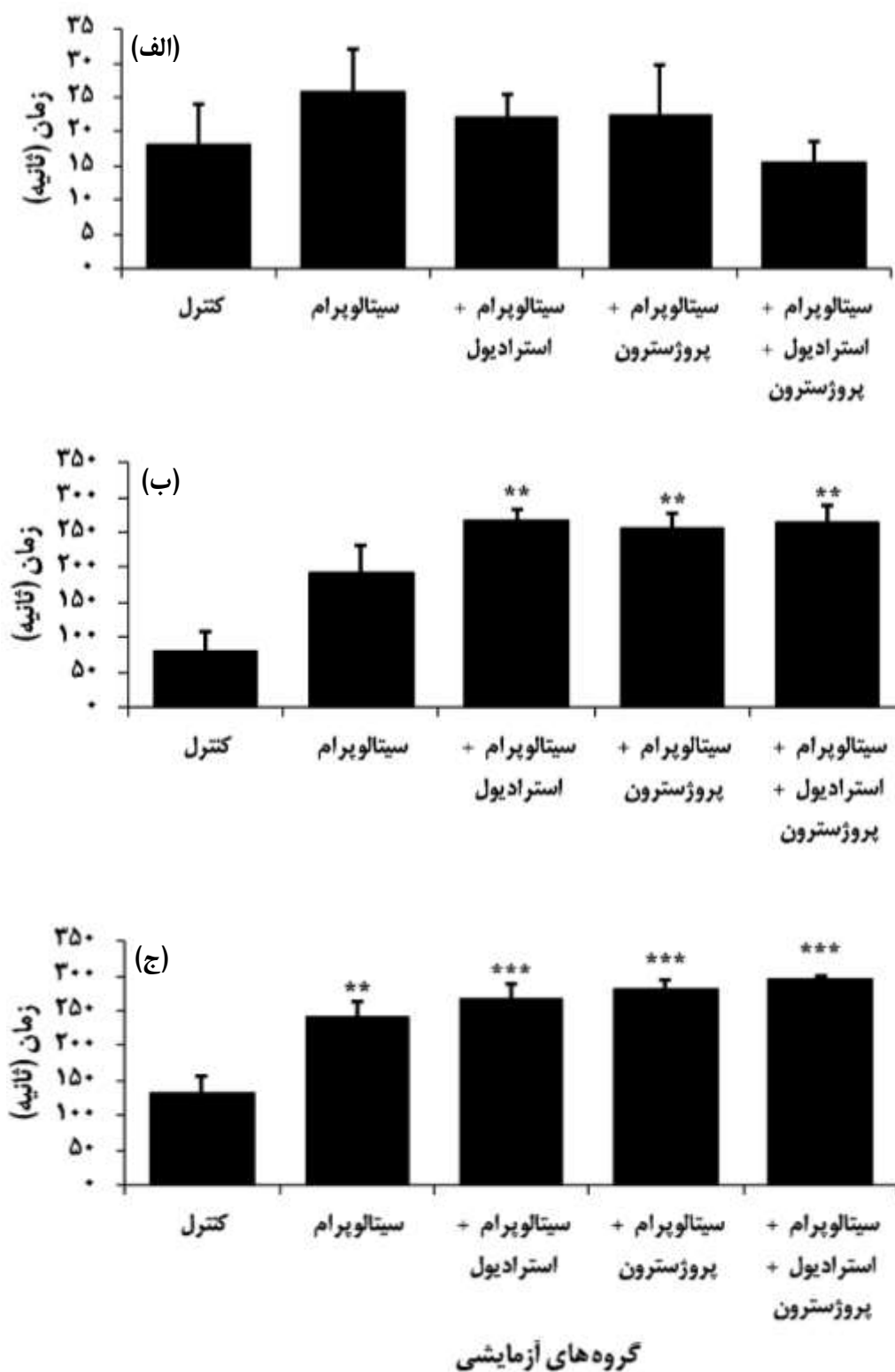
آنالیز آماری

به منظور تحلیل داده‌ها از آزمون واریانس یک‌طرفه استفاده گردید. تعیین اختلاف بین گروه‌ها با آزمون توکی بررسی شد. نتایج با اطمینان ۹۵٪ ارائه گردید و نتایج حاصله معنی‌داری با p value که نشان‌دهنده سطح معنی‌دار بودن اختلاف می‌باشد سنجیده شد. در این مطالعه، تجزیه و تحلیل آنالیز آماری از نرم‌افزار SPSS استفاده شد. فرض نرمال بودن داده‌ها با تست کولموگروف-اسمیرنوف انجام شد. تمام نتایج و مقادیر به‌دست‌آمده به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد از میانگین ارائه شده است سطوح معنی‌داری برای یادگیری و حافظه $p < 0/05$ در نظر گرفته شد.

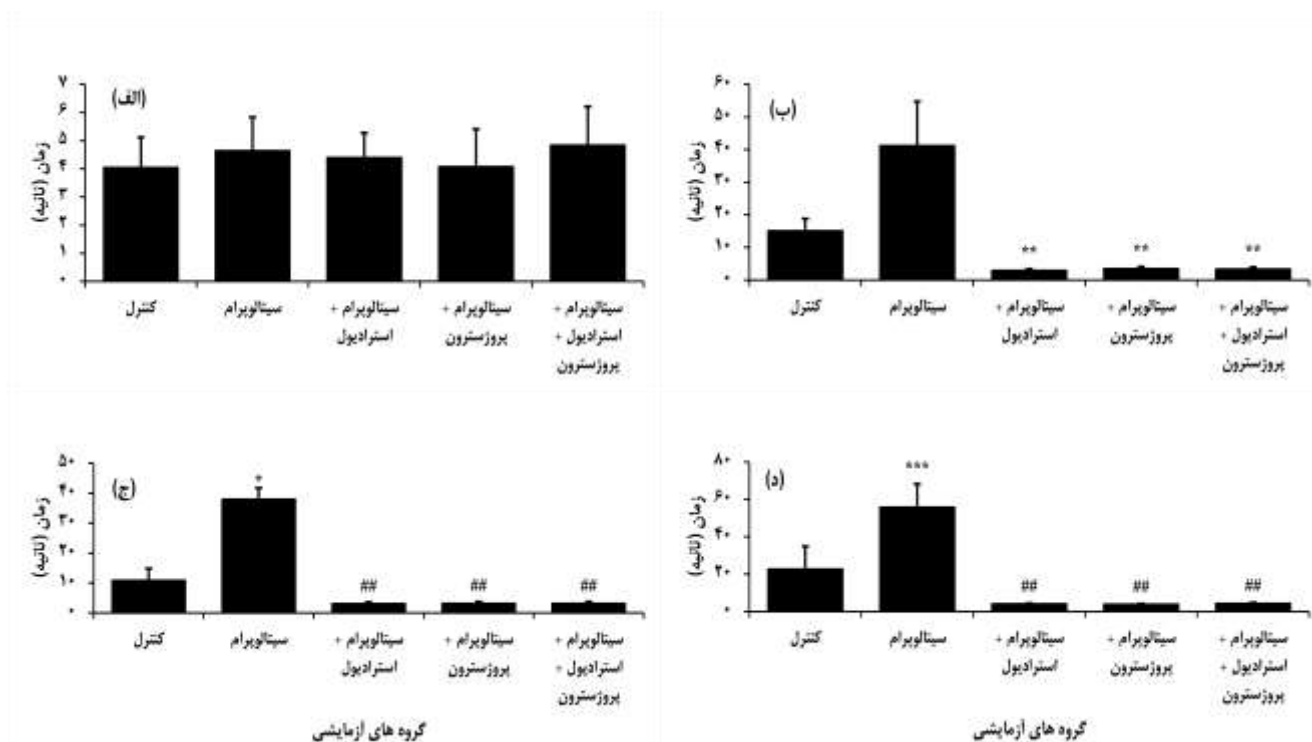
یافته‌ها

اثر سیتالوپرام و هورمون‌های استروئیدی بر روی حافظه اجتنابی غیرفعال

در نمودار ۱ الف، اولین تست اکتساب بررسی حافظه اجتنابی غیرفعال قبل از انجام تزریق گروه‌های دارویی در مرحله اکتساب را نشان می‌دهد که هیچ‌یک از گروه‌ها دارویی دریافت نکردند. با توجه به تمایل ذاتی حیوان در ورود به ناحیه تاریک همه‌ی گروه‌ها در چند ثانیه ابتدایی پس از قرارگرفتن در اتاقک روشن و بازشدن درب گیوتینی وارد ناحیه تاریک می‌شوند. به این ترتیب، تاخیر در ورود به ناحیه تاریک برای همه‌ی گروه‌ها در یک محدوده زمانی ثابت و مشترک بود و تفاوت معنی‌داری میان گروه‌های مختلف دیده نمی‌شود. در نمودار ۱ ب بررسی حافظه اجتنابی غیرفعال بعد از انجام تزریق گروه‌های دارویی در مرحله بازیابی در گروهی که سیتالوپرام دریافت کرده‌اند تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل وجود ندارد در سه گروه دیگر که به ترتیب سیتالوپرام + استروژن، سیتالوپرام + پروژسترون، سیتالوپرام + استروژن + پروژسترون نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری در سطح ($p < 0/01$) نشان می‌دهد. در نمودار ۱ ج مجموع زمان حضور حیوان در اتاقک روشن را نشان می‌دهد در گروهی که سیتالوپرام دریافت



نمودار ۱- اثر سیتالوپرام و هورمون‌های استروئیدی بر روی حافظه اجتنابی غیرفعال. داده‌ها به صورت میانگین تعداد ۲۵ موش در پنج گروه کنترل، دریافت‌کننده سیتالوپرام، دریافت‌کننده سیتالوپرام به همراه استروژن، دریافت‌کننده سیتالوپرام به همراه پروژسترون، دریافت‌کننده سیتالوپرام به همراه استروژن و پروژسترون. در هر گروه داده‌ها براساس میانگین $\pm$ انحراف استاندارد از میانگین نشان داده شده‌اند. *: اختلاف معنی‌دار با $p < 0.05$; **: اختلاف معنی‌دار با $p < 0.01$; ***: اختلاف معنی‌دار با $p < 0.001$.



نمودار ۲- اثر سیتالوپرام و هورمون‌های استروئیدی بر روی تعادل حرکتی. (الف) قبل از تزریق، (ب) ۱ ساعت بعد از تزریق، (ج) ۳ ساعت بعد از تزریق، (د) ۲۴ ساعت بعد از تزریق. داده‌ها به صورت میانگین تعداد ۲۵ موش در پنج گروه کنترل، دریافت‌کننده سیتالوپرام، دریافت‌کننده سیتالوپرام به همراه استروژن، دریافت‌کننده سیتالوپرام به همراه پروژسترون، دریافت‌کننده سیتالوپرام به همراه استروژن و پروژسترون. در هر گروه داده‌ها بر اساس میانگین $\pm$ انحراف استاندارد از میانگین نشان داده شده‌اند. *: اختلاف معنی‌دار با $p < 0.05$; **: اختلاف معنی‌دار با $p < 0.01$; ***: اختلاف معنی‌دار با $p < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد. #: اختلاف معنی‌دار با $p < 0.01$ در مقایسه با گروه دریافت‌کننده سیتالوپرام به همراه استروژن می‌باشد.

بحث

در پژوهش حاضر سیتالوپرام به عنوان یکی از داروهای است که باعث می‌شود که علائم افسردگی را کنترل کند و همچنین در این آزمایش میزان حافظه و تعادل مورد بررسی قرار گرفت که براساس یافته‌های این پژوهش در بررسی حافظه اجتنابی غیرفعال در اولین تست اکتساب که هیچ یک از گروه‌ها دارویی دریافت نکرده بودند با توجه به تمایل ذاتی حیوان به تاریکی در ثانیه‌های ابتدایی ورود حیوان به ناحیه تاریک دیده شد. به همین ترتیب تاخیر در ورود به ناحیه تاریک برای همه گروه‌ها در یک محدوده زمانی ثابت و مشترک بود اما در گروهی که سیتالوپرام دریافت کردند زمان تاخیر برای ورود به ناحیه تاریک و مجموع زمان حضور حیوان در اتاقک روشن افزایش یافته و این افزایش بیانگر آن است که سیتالوپرام حافظه اجتنابی غیرفعال را افزایش داده است. در دو گروهی که به ترتیب سیتالوپرام و استروژن و سیتالوپرام با پروژسترون دریافت کردند افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. در

بررسی حافظه تعادلی در اولین تست اکتساب که هیچ یک از گروه‌ها دارویی دریافت نکردند زمان حفظ تعادل برای همه گروه‌ها در یک محدوده زمانی ثابت و مشترک بود و اما در زمان ۳ ساعت پس از تزریق در گروهی که سیتالوپرام دریافت کردند افزایش حفظ تعادل دیده شد که نشان می‌دهد که سیتالوپرام حافظه تعادلی را در ۳ ساعت پس از تزریق افزایش می‌دهد در صورتی که در دو گروهی ه سیتالوپرام با استروژن و سیتالوپرام با پروژسترون دریافت کردند نتیجه‌ای مشابه گروه کنترل مشاهده شد که نشان‌دهنده آن است که استروژن و پروژسترون سبب کاهش اثر سیتالوپرام می‌شود، و این نتیجه بیانگر آن است که سیتالوپرام در ۲۴ ساعت پس از تزریق اثر افزایشی خود بر حافظه تعادلی را از دست می‌دهد [۱۳]. در بیماران مبتلا به آلزایمر، سیتالوپرام علائم رفتاری مانند اضطراب و تحریک پذیری را بهبود می‌بخشد [۱۴] همچنین، سیتالوپرام می‌تواند تجمع پلاک‌های آمیلوئید در موش‌ها و انسان‌ها را کاهش دهد [۱۵] این اثر ممکن است با واسطه

هیپوکمپ بستگی داشته باشد [۱۰].

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که تزریق داخل هیپوکمپی سیتالوپرام باعث افزایش حافظه اجتنابی در موش‌های دریافت‌کننده این دارو می‌شود، همچنین تزریق توام سیتالوپرام با هورمون‌های استروئیدی اثر دارو را بیشتر می‌کند. از طرفی تزریق این داروها باعث کاهش تعادل در حیوانات می‌شود.

سپاسگزاری

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه ارشد رشته فیزیولوژی جانوری نازنین زهرا روزخوش می‌باشد. از دانشگاه شهید بهشتی به خاطر حمایت مالی از این پایان‌نامه تقدیر و قدردانی می‌شود.

ملاحظات مالی

این مطالعه با حمایت مالی دانشگاه شهید بهشتی انجام شده است.

تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

نقش نویسندگان

ن.ز.ر: انجام مطالعه، جمع‌آوری و آنالیز داده‌ها، نگارش مقاله. ه.خ.: طراحی مطالعه، تهیه مواد و دستگاه‌های مورد نیاز برای مطالعه، ویرایش نقادانه مقاله. ع.ج: طراحی مطالعه، نظارت بر انجام حسن اجرای مطالعه، ویرایش نقادانه مقاله.

فهرست منابع

- [1] Hall JE, Guyton and Hall textbook of medical physiology e-Book: Elsevier Health Sciences; 2010.
- [2] Sanchez C, Reines EH, Montgomery SA, A comparative review of escitalopram, paroxetine, and sertraline: are they all alike? *Int Clin Psychopharmacol* 29 (2014) 185-196.

هیدروکسی تریپتوفان باشد. به‌طورمشابه، بازدارنده بازجذب سروتونین دیگر، مانند پاروکستین و فلوکستین نیز باعث کاهش تولید آمیلوئید در مدل‌های موش ماده آلزایمری می‌شود [۱۶]. مهارکننده بازدارنده بازجذب سروتونین به پروتئین انتقال‌دهنده سروتونین متصل شده و انتقال یا جذب سروتونین را به سلول‌های عصبی سروتونرژیک مهار می‌کنند [۱۷]. این عمل منجر به افزایش طولانی مدت در توانایی سیناپسی سروتونین و در نهایت افزایش عملکرد سروتونرژیک در سیستم عصبی مرکزی می‌شود [۱۸]. سیتالوپرام نیز همچنین باعث افزایش ارتباطات سیگنالیگ در مغز می‌شود و باعث می‌شود حافظه نیز تقویت شده و پاسخ‌دهی بهتری را نیز ایجاد کند که این خود باعث بازگردانی سازمان شبکه‌های مغزی نیز می‌شود [۱۹]. طی مطالعات بسیاری مشخص گردیده که پروژسترون با دوز ۱ میکرو گرم وزن بدن اثر تحریکی بر روی سیناپس‌ها و دندریت‌ها ندارند و با دوز ۳ میکروگرم که دوز بالایی می‌باشد تعداد گیرنده‌های آن در سطح غشاء کاهش می‌دهد یا ممکن است گیرنده‌ها را مخفی کند [۲۰]. افزایش پروژسترون باعث کاهش ارتباطات سیناپسی و کاهش دندریت و در نتیجه باعث کاهش حافظه و تعادل می‌گردد. پروژسترون به‌تنهایی می‌تواند میزان حافظه و تعادل را نیز افزایش دهد اما هنگامی که همراه با چند دارو باشد میزان تعادل و حافظه را کم می‌کند زیرا گیرنده‌ها مخفی می‌شوند و باعث کاهش دندریت و در نتیجه باعث کاهش حافظه و تعادل می‌گردد [۶]. در بررسی‌های انجام شده در این آزمایش نشان داده شده است که استروژن هم می‌تواند به‌میزان کمتری بر روی حافظه نیز تاثیرگذار باشد به نظر می‌رسد درمان با استروژن نقش کمتری را در تکثیر سلول هیپوکمپ بازی می‌کند در تحقیقی که انجام شده است نشان می‌دهد که استروژن در هیپوکمپ باعث کاهش اختلال در حافظه از طریق محافظت عصبی می‌شود اما این عمل می‌تواند به میزان دوز استروژن و نوع جنس موش و زمان تزریق در

- [3] Gillman P, Tricyclic antidepressant pharmacology and therapeutic drug interactions updated. *Br J Pharmacol* 151 (2007) 737-748.
- [4] Schilström B, Konradsson-Geuken A, Ivanov V, Gertow J, Feltmann K, Marcus MM, Jardeemark K, Svensson TH, Effects of S-citalopram, citalopram, and R-citalopram on the firing patterns of dopamine neurons in the ventral tegmental area, N-methyl-D-aspartate receptor-mediated transmission in the medial

- prefrontal cortex and cognitive function in the rat. *Synapse* 65 (2011) 357-367.
- [5] Duarte-Guterman P, Yagi S, Chow C, Galea LA, Hippocampal learning, memory, and neurogenesis: Effects of sex and estrogens across the lifespan in adults. *Horm Behav* 74 (2015) 37-52.
- [6] Chung MH, Suzuki S, Nishihara T, Hattori M, Estrogenic effects of a Kampo formula, Tokishakuyakusan, in parous ovariectomized rats. *Biol Pharm Bull* 31 (2008) 1145-1149.
- [7] Freeman EW, Weinstock L, Rickels K, Sondheimer SJ, Coutifaris C, A placebo-controlled study of effects of oral progesterone on performance and mood. *Br J Clin Pharmacol* 33 (1992) 293-298.
- [8] Huang Y, Hu Z-y, Yuan H, Shu L, Liu G, Qiao S-y, Sun L, Zhou W-x, Zhang Y-x, Danggui-Shaoyao-San improves learning and memory in female SAMP8 via modulation of estradiol. *Evid Based Complement Alternat Med* 2014 (2014) 327294.
- [9] Ebrahimzadeh M, El Mansari M, Blier P, Synergistic effect of aripiprazole and escitalopram in increasing serotonin but not norepinephrine neurotransmission in the rat hippocampus. *Neuropharmacology* 146 (2019) 12-18.
- [10] Tanapat P, Hastings NB, Gould E, Ovarian steroids influence cell proliferation in the dentate gyrus of the adult female rat in a dose- and time-dependent manner. *J Comp Neurol* 481 (2005) 252-265.
- [11] Roozbehi A, Sharafi MT, Karimi F, Kamali AM, The impact of using different doses of progesterone on memory performance. *Bratisl Lek Listy* 118 (2017) 405-407.
- [12] Gomar A, Hosseini A, Mirazi N, Preventive effect of Rubus fruticosus on learning and memory impairment in an experimental model of diabetic neuropathy in male rats. *PharmaNutrition* 2 (2014) 155-160.
- [13] Karlsson I, Godderis J, Augusto De Mendonça Lima C, Nygaard H, Simányi M, Taal M, Eglin M, A randomised, double-blind comparison of the efficacy and safety of citalopram compared to mianserin in elderly, depressed patients with or without mild to moderate dementia. *Int J Geriatr Psychiatry* 15 (2000) 295-305.
- [14] Porsteinsson AP, Drye LT, Pollock BG, Devanand D, Frangakis C, Ismail Z, Marano C, Meinert CL, Mintzer JE, Munro CA, Effect of citalopram on agitation in Alzheimer disease: the CitAD randomized clinical trial. *JAMA* 311 (2014) 682-691.
- [15] Leonpacher AK, Peters ME, Drye LT, Makino KM, Newell JA, Devanand D, Frangakis C, Munro CA, Mintzer JE, Pollock BG, Effects of citalopram on neuropsychiatric symptoms in Alzheimer's dementia: evidence from the CitAD study. *Am J Psychiatry* 173 (2016) 473-480.
- [16] Cirrito JR, Disabato BM, Restivo JL, Verges DK, Goebel WD, Sathyan A, Hayreh D, D'Angelo G, Benzinger T, Yoon H, Serotonin signaling is associated with lower amyloid- β levels and plaques in transgenic mice and humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 108 (2011) 14968-14973.
- [17] Wang J, Zhang Y, Xu H, Zhu S, Wang H, He J, Zhang H, Guo H, Kong J, Huang Q, Fluoxetine improves behavioral performance by suppressing the production of soluble β -amyloid in APP/PS1 mice. *Curr Alzheimer Res* 11 (2014) 672-680.
- [18] Nelson RL, Guo Z, Halagappa VM, Pearson M, Gray AJ, Matsuoka Y, Brown M, Martin B, Iyun T, Maudsley S, Prophylactic treatment with paroxetine ameliorates behavioral deficits and retards the development of amyloid and tau pathologies in 3xTgAD mice. *Exp Neurol* 205 (2007) 166-176.
- [19] Borchert RJ, Rittman T, Rae CL, Passamonti L, Jones SP, Vatansever D, Vázquez Rodríguez P, Ye Z, Nombela C, Hughes LE, Robbins TW, Rowe JB, Atomoxetine and citalopram alter brain network organization in Parkinson's disease. *Brain Commun* 1 (2019) fcz013.
- [20] Prange-Kiel J, Wehrenberg U, Jarry H, Rune GM, Para/autocrine regulation of estrogen receptors in hippocampal neurons. *Hippocampus* 13 (2003) 226-234.

Research paper

Interaction effects of intra-hippocampal injection of citalopram with estrogen and progesterone on passive avoidance memory and motor balance in male Wistar rats

Nazanin Zahra Roozkhosh, Homayoun Khazali*, Abdolkarim Hosseini

Department of Animal Sciences and Biotechnology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

Received: 18 June 2020

Accepted: 11 September 2020

Abstract

Background and aims: This study was investigated the interaction effects of the intra-hippocampal injection of citalopram with estrogen and progesterone on passive avoidance memory and motor balance in male Wistar rats.

Methods: This experimental study was conducted on the 25 male Wistar rats. Passive avoidance memory measured by shuttle box device and movement balance examined by the rotarod device. Animal randomly assigned into 5 groups, group 1: saline, group 2: citalopram (2 nmol), group 3: citalopram (2 nmol) + estrogen (1 nmol), group 4: citalopram (2 nmol) + progesterone (1 nmol), and group 5 citalopram (2 nmol) + estrogen (1 nmol) + progesterone (1 nmol). In all groups, the final injection volume was 1.5 µl in left or right hippocampi.

Results: Citalopram received group increased the latency for entering the dark areas and the total time the animals have spent in the light compartment. It shows that citalopram has increased passive avoidance memory ($p < 0.001$). When the citalopram was injected with steroid hormones into the hippocampus, there was a significant increase in learning and memory activity in rats ($p < 0.01$). In the motor balance test initially, there was no significant difference observed between the control groups. After receiving the injections at 1,3 and 24-h intervals, a significant decrease in motor balance was observed compared to the other control groups ($p < 0.01$).

Conclusion: Intra-hippocampal injection of citalopram increased the passive avoidance learning process in rats receiving the drug. On the other hand, citalopram reduces motor balance when combined with estrogen and progesterone.

Keywords: Estrogen, Progesterone, Passive avoidance, Citalopram, Hippocampus

Please cite this article as follows:

Roozkhosh Nazanin Zahra, Khazali H, Hosseini A, Interaction effects of intra-hippocampal injection of citalopram with estrogen and progesterone on passive avoidance memory and motor balance in male Wistar rats. *Iran J Physiol Pharmacol* 3 (2019) 261-269.

*Corresponding author: h_khazali@sbu.ac.ir (ORCID ID: 0000-0003-0155-2192)