

# اثرات نورهارمان بر ذخیره حافظه در مدل یادگیری احترازی غیر فعال موش های صحرائی

محمد حسین اسماعیلی<sup>۱\*</sup>، محمد صوفی آبادی<sup>۱</sup>، هاشم حق دوست<sup>۲</sup>، ایدا لطفی<sup>۳</sup>، مهشید نجفی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> دانشیار گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران.

<sup>۱</sup> استادیار گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران.

<sup>۲</sup> دانشجوی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران.

\* نشانی نویسنده مسؤول: گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، دکتر محمد حسین اسماعیلی

E-mail: esmail66@yahoo.com

وصول: ۹۳/۱۲/۸، اصلاح: ۹۴/۲/۱۱، پذیرش: ۹۴/۴/۱۳

## چکیده

**زمینه و هدف:** با وجود این که داروهای بنزودیازپینی خواص ضد اضطرابی و فراموش آوری دارند، ولی بعضی از بتا-کاربولین ها به عنوان آگونیست های معکوس گیرنده های بنزودیازپینی بر روی سیستم دوپامینرژیک اثر تحریکی دارند و باعث افزایش سطح دوپامین هیپوکامپ می-شوند و از خود خواص اضطراب زایی و افزایش میزان یادگیری نشان می دهند. هدف این تحقیق بررسی اثرات نورهارمان آگونیست معکوس گیرنده بنزودیازپینی بر ذخیره حافظه در مدل یادگیری احترازی غیر فعال بود.

**مواد و روش ها:** ۴۰ سر موش نر ویستار به گروه های کنترل، الکل و نورهارمان تقسیم شدند. موش ها در دستگاه احترازی غیر فعال، (۵۰ هرتز، ۱ میلی آمپر، برای ۳ ثانیه) آموزش داده شدند. بلافاصله بعد از آموزش الکل (حلال نورهارمان) یا نورهارمان (۵ دهم، ۲ میلی گرم بر کیلوگرم، داخل صفاقی) به موش ها تزریق شد. ۴۸ ساعت بعد، تست به خاطر آوری انجام شد. مدت زمانی که طول می کشید تا حیوان وارد محفظه تاریک دستگاه شود، به عنوان معیار ذخیره حافظه اندازه گیری شد.

**یافته ها:** تزریق بعد از آموزش نورهارمان ذخیره حافظه در موش ها را به صورت وابسته به دوز بهبود بخشید. به طوری که تاخیر زمانی قبل از ورود به ناحیه تاریک و کل زمان حضور در ناحیه روشن در گروه های دریافت کننده نورهارمان به صورت وابسته به دوز بیشتر از گروه کنترل بود. این زمان ها در گروه نورهارمان ۲ میلی گرم بر کیلوگرم به طور معناداری بیشتر از گروه کنترل بود ( $P < 0.001$ ).

**نتیجه گیری:** با توجه به یافته ها، نورهارمان در دوز کم به عنوان آگونیست معکوس گیرنده های بنزودیازپینی از طریق تحریک گیرنده های گابا موجب افزایش ذخیره حافظه می شود. لذا ممکن است برای تقویت حافظه سودمند باشد.

**واژه های کلیدی:** نورهارمان، یادگیری احترازی غیر فعال، ذخیره حافظه

## مقدمه

فراموشی بعدی می شوند (۲،۱). تریازولودیاپین ها به- عنوان بنزودیازپین های نسل جدید همچون اپرازولام، تریازولام و بروتیزولام باعث هر دو نوع فراموشی قبلی و

تحقیقات متعددی وجود دارد که نشان می دهد بنزودیازپین های قدیمی همچون دیاپام و اکسازپام باعث

بعدی می‌گردند (۴،۳). از طرفی دیگر، آنتاگونیست‌های گیرنده‌های دیازپینی همچون فلومازنیل و CGS8216 فراموشی ایجاد شده به وسیله‌ی انواع مختلف داروهای بنزودیازپینی و تریازولودیاپینی را کاهش می‌دهند (۵،۳). سه نوع تعدیل‌کننده‌ی الوستریک از طریق محل اتصال بنزودیازپین‌ها عمل می‌کنند: تعدیل‌کننده‌های مثبت (اگونیست)، خنثی (انتاگونیست) و منفی (اگونیست معکوس).

نشان داده شده که اگونیست‌های گیرنده‌های بنزودیازپینی خواص ضد اضطرابی (anxiolytic) و فراموشی‌آوری (amnesic properties) دارند. درحالی که اگونیست‌های معکوس گیرنده‌های بنزودیازپینی از قبیل بتا-کاربولین ( $\beta$ -carbolines) بر عکس از خود خواص اضطراب‌زایی و افزایش میزان یادگیری را نشان می‌دهند (۶). بتا-کاربولین‌ها (هارمان، هارمالین و نورهارمان) که به‌صورت آگروژن در گوشت، میوه‌های مختلف، دود سیگار و تنباکو و مشروبات الکلی وجود دارند، به‌صورت اندوژن نیز در بدن یافت می‌شوند (۶). این بتا-کاربولین‌های داخلی و خارجی و برخی از متابولیت‌های آنها اثرات نوروتوکسیک از خود نشان می‌دهند و تصور می‌شود که گیرنده‌های بنزودیازپینی و ایمیدازولین را تحت تاثیر قرار می‌دهند (۷). این ترکیبات همچنین می‌توانند گیرنده‌های سروتونینی را فعال کرده، آنزیم مونوآمینوآکسیداز (MAO) و مبادله‌ی گر یون‌های سدیم - هیدروژن را مهار نمایند (۷،۶). به دلیل آن‌که سطوح بالای پلاسمایی از این ترکیبات در افراد سیگاری، هروئینی، بیماران دچار لرزش عضلانی و همچنین پارکینسونی شناسایی شده است، تصور می‌شود که نقش مهمی در پاتوفیزیولوژی برخی از اختلالات سیستم عصبی مرکزی از جمله پارکینسون داشته باشند (۸). با این حال بعضی از محققان نشان داده‌اند که بعضی از این ترکیبات در دوز کم بر روی سیستم دوپامینرژیک اثر تحریکی دارند و ضمن افزایش سطح دوپامین، تکثیر دندریت‌ها و سیناپس‌ها در

هیپوکامپ، باعث بهبود یادگیری و حافظه می‌شوند (۹،۶). درحال حاضر، این یافته باعث تمرکز تحقیقات بر روی اثر تحریکی و حفاظتی بتا-کاربولین‌ها بر سیستم دوپامینرژیک و استفاده بالقوه از آن به‌عنوان داروی ضد الزایمر شده است. نشان داده شده است که بتا-کاربولین‌ها در دوز بالا، تشنج‌زا و در دوز متوسط، اضطراب‌زا هستند و در دوز کم تقویت‌کننده‌ی یادگیری می‌باشند (۱۰،۶). از آنجایی که آنتاگونیست‌های بنزودیازپینی از قبیل فلومازنیل و نورهارمان اختلال حافظه و یادگیری ایجاد شده توسط داروهای بنزودیازپینی را بهبود می‌بخشند (۱۱،۱۲). بنابراین اگونیست‌های معکوس آن‌ها از جمله نورهارمان شاید بتوانند در جهت معکوس داروهای بنزودیازپینی حافظه و یادگیری را تقویت کنند. از این رو، در تحقیق پیش رو سعی شد اثرات تزریق درون صفاقی نورهارمان با دوزهای مختلف بر ذخیره‌ی حافظه در مدل یادگیری احترازی غیر فعال موش‌های نر صحرایی مورد ارزیابی قرار گیرد.

### مواد و روش‌ها

این مطالعه‌ی تجربی در سال ۱۳۹۲ در دانشگاه علوم پزشکی قزوین انجام شد. تعداد ۴۰ موش نر ویستار (تهیه شده از موسسه‌ی رازی) که وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم داشتند، در ۵ گروه (۸ موش در هر گروه) مورد آزمایش قرار گرفتند. موش‌ها قبل از آموزش در ۸ قفس جداگانه (۵ موش در هر قفس بزرگ) در شرایط استاندارد از نظر دما ( $23 \pm 2$  درجه‌ی سانتی‌گراد) و نور نگهداری شدند. در طول مدت آزمایش موش‌ها آب و غذای طبیعی خود را آزادانه دریافت می‌کردند. گروه‌های مورد آزمایش به شرح ذیل بودند: گروه کنترل، گروه الکل (حلال نورهارمان)، گروه نورهارمان. گروه الکل و گروه‌های نورهارمان بلافاصله بعد از پایان مرحله‌ی آموزش، الکل اتانول (۲/۰ میلی لیتر) و نورهارمان (سیگما آمریکا) با دوز ۵ دهم، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم را به‌صورت داخل صفاقی

گردید سپس داده‌های جمع آوری شده از پارامترهای مذکور در هر یک از گروه‌های آزمایشی با استفاده از تست‌های آماری مناسب مورد مقایسه قرار گرفتند (۱۴). در تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و (آزمون تعقیبی توکی) استفاده شد. سطح معنادار ۰/۰۵  $P <$  در نظر گرفته شده است. همه‌ی آزمایش‌ها مطابق با کتاب راهنما برای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی نشر یافته در نشریه‌ی شماره‌ی ۸۰-۲۳ موسسه‌ی ملی سلامت که در سال (۱۳۷۵) ۱۹۹۶ تجدیدنظر شده، انجام گردید.

### یافته‌ها

در مورد هر سه پارامتر تاخیر زمانی ورود به ناحیه‌ی تاریک، کل زمان حضور در ناحیه‌ی روشن و کل زمان حضور در ناحیه‌ی تاریک در بین گروه‌ها، ابتدا آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و در ادامه آزمون توکی انجام شد. نتایج ارائه شده در این مقاله نتایج آزمون تعقیبی توکی می‌باشد. آنالیز تاخیر زمانی ورود به قسمت تاریک گروه‌های کنترل و الکل نشان داد بین این دو گروه اختلاف معناداری وجود ندارد، ( $P < ۰/۰۰۱$ )، به همین دلیل در آنالیزهای بعدی گروه‌های دریافت‌کننده‌ی نورهارمان فقط با گروه کنترل مقایسه شدند. نتایج آنالیز تاخیر زمانی ورود به قسمت تاریک نشان داد اختلاف بین گروه کنترل با گروه نورهارمان (۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) معنادار است ( $F = ۷/۵۹۴$  و  $P < ۰/۰۰۱$ ). همچنین اختلاف بین گروه نورهارمان (۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با گروه نورهارمان (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نیز معنادار بود ( $P < ۰/۰۰۴$  و  $F = ۷/۵۹۴$ )، نمودار (۱). همچنین آنالیز کل زمان گذرانده شده در ناحیه‌ی روشن در طی آزمایش به خاطر آوری نشان داد بین گروه‌های کنترل و الکل اختلاف معناداری وجود ندارد، ولی اختلاف بین گروه کنترل با گروه نورهارمان (۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) معنادار بود ( $F = ۳/۳۰۵$  و  $P < ۰/۰۰۴۷$ )، نمودار (۲). همچنین آنالیز

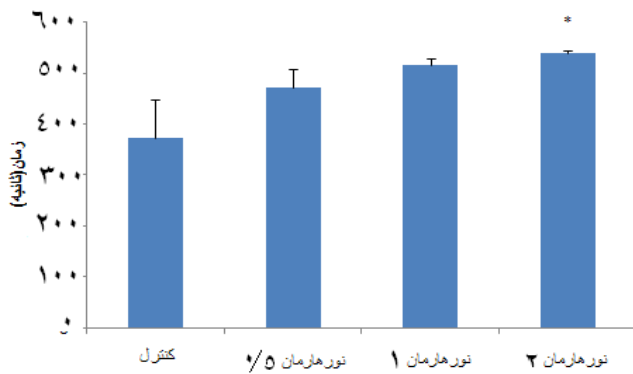
دریافت کردند (۱۳). برای ارزیابی یادگیری و حافظه‌ی حیوان از دستگاه یادگیری احترازی مهاری (شرکت طب آزما تبریز) استفاده شد (۱۴).

مراحل آزمون حافظه و یادگیری احترازی مهاری

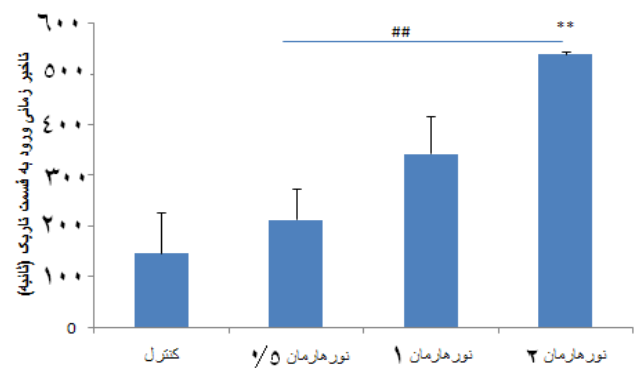
۱-سازش یافتن: ابتدا همه‌ی گروه‌های آزمایشی به دستگاه عادت داده شدند. به این ترتیب که موش‌های هر گروه یکی یکی درون دستگاه قرار گرفتند. ۷ ثانیه بعد در بین دو محفظه، برداشته و به مدت دو دقیقه به موش اجازه داده شد آزادانه در دو محفظه‌ی تاریک و روشن رفت و آمد کند که معمولاً در این مرحله موش به طور طبیعی تمایل داشت وارد محفظه‌ی تاریک شود. بلافاصله پس از ورود حیوان به قسمت تاریک، در، بسته و پس از سپری شدن چند ثانیه حیوان به قفس بازگردانده شد.

۲-اکتساب: ۳۰ دقیقه پس از عادت، مرحله‌ی اکتساب انجام شد. در این مرحله، موش در قسمت روشن جعبه گذاشته شد و دو دقیقه به حیوان مهلت داده شد تا وارد محفظه‌ی تاریک شود. بلافاصله بعد از ورود موش به قسمت تاریک، در، بسته شده و شوک الکتریکی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۱ میلی‌آمپر به مدت ۳ ثانیه به پای حیوان وارد گردید. سپس موش از محفظه‌ی تاریک خارج و به قفس بازگردانده شد. پس از ۲ دقیقه موش مجدداً در ناحیه‌ی روشن قرار گرفته تا تست یادگیری انجام شود. عدم ورود به ناحیه‌ی تاریک به مدت ۱۲۰ ثانیه به عنوان یادگیری موفق در نظر گرفته شد. در صورت ورود مجدد حیوان به ناحیه‌ی تاریک، در برای بار دوم، بسته و شوک به صورت قبل وارد گردید و این کار آن قدر تکرار می‌شد تا موش یاد بگیرد وارد محفظه‌ی تاریک نشود.

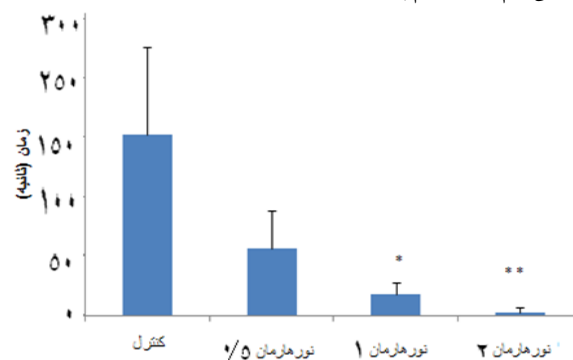
۳-به خاطر آوری: در آزمون به خاطر آوری که ۴۸ ساعت بعد از آموزش صورت گرفت، موش در قسمت روشن قرار گرفته، ۷ ثانیه بعد در باز گردید و زمانی که طول می کشید تا حیوان وارد قسمت تاریک شود و مدت زمانی که در قسمت تاریک و روشن می‌ماند، به مدت ۹ دقیقه ثبت



نمودار ۲: مقایسه کل زمان حضور در ناحیه‌ی روشن بین گروه‌های نورهارمان (۵ دهم، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گروه کنترل در گروه‌های مورد آزمایش. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار میانگین نشان داده شده است. اختلاف بین گروه نورهارمان (۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با گروه شاهد معنادار بود  $(P < 0.047)^*$



نمودار ۱: مقایسه‌ی تأخیر زمانی ورود به ناحیه‌ی تاریک بین گروه‌های نورهارمان (۵ دهم، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گروه کنترل. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار میانگین نشان داده شده است. اختلاف بین گروه نورهارمان (۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با گروه کنترل و گروه نورهارمان (۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) معنادار بود.  $(P < 0.001)^{**}$  در مقایسه با گروه کنترل  $##$  و  $(P < 0.04)^*$  در مقایسه با گروه نورهارمان (۵ دهم میلی‌گرم بر کیلوگرم).



نمودار ۳: مقایسه کل زمان حضور در ناحیه‌ی تاریک بین گروه‌های نورهارمان (۵ دهم، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گروه کنترل در گروه‌های مورد آزمایش. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار میانگین نشان داده شده است. اختلاف بین گروه نورهارمان (۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با گروه شاهد معنادار بود  $(P < 0.001)^{**}$  و  $(P < 0.04)^*$

کیلوگرم) طولانی‌تر از سایر گروه‌هاست. این موضوع نشان می‌دهد این دو گروه دریافت شوک را در صورت ورود به ناحیه‌ی تاریک بیشتر به حافظه سپرده‌اند. همچنین آنالیز زمان گذرانده شده در محفظه‌ی تاریک (ناحیه‌ی دریافت شوک) در طی آزمایش به خاطرآوری نشان داد این زمان در گروه‌های دریافت کننده‌ی نورهارمان به صورت وابسته به دوز کمتر از گروه کنترل است. این موضوع نشان‌دهنده‌ی این است که تزریق نورهارمان بلافاصله بعد از آموزش به موش‌ها باعث افزایش وابسته به دوز ذخیره‌ی حافظه‌ی آن‌ها می‌شود. به-نحوی که موش‌های دریافت کننده‌ی نورهارمان به صورت وابسته به دوز مدت زمان بیشتری را در ناحیه‌ی روشن طی می‌کنند تا شوک نبینند و زمان کمتری را در

کل زمان گذرانده شده در محفظه‌ی تاریک (ناحیه‌ی دریافت شوک) در طی آزمایش به خاطرآوری نشان داد باز هم بین گروه‌های کنترل و الکل اختلاف معناداری وجود ندارد، ولی اختلاف بین گروه کنترل با گروه نورهارمان (۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) معنادار بود  $(P < 0.001)$  و  $(F = 3/131)$ . همچنین در این قسمت اختلاف بین گروه کنترل با گروه نورهارمان (۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) معنادار بود  $(P < 0.04)$ . نمودار (۳).

## بحث

نتایج دو بخش اول نشان داد که تأخیر زمانی ورود به قسمت تاریک و زمان حضور در ناحیه‌ی روشن در گروه کنترل و گروه نورهارمان (۲ میلی‌گرم بر

ناحیه‌ی تاریک دریافت شوک سپری می‌کنند تا شوک کمتری ببینند.

این یافته با نتایج محققانی که نشان داده‌اند بتاکاربالین‌ها در دوز کم باعث بهبود یادگیری و حافظه می‌شوند، همخوانی دارد (۹،۶). اگر حافظه، به معنای یادآوردن اطلاعات باشد باید این اطلاعات ابتدا دریافت شوند و دریافت اطلاعات تحت تأثیر سطح هوشیاری (arousal level) است و فعالیت طبیعی سیستم‌های واسطه‌های عصبی مغز برای این امر لازم است. می‌توان پیش‌بینی کرد هر ماده‌ای که سطح هوشیاری را کاهش دهد، سبب اختلال در روند طبیعی یادگیری و حافظه خواهد شد و برعکس هر ماده‌ای که سبب افزایش سطح هوشیاری شود، سبب بهبود یادگیری و حافظه نیز خواهد شد. در این رابطه محققان نشان داده‌اند داروهای بنزودیازپینی (از جمله دیازپام) که سطح هوشیاری را کاهش می‌دهند، موجب اختلال در یادگیری و حافظه و همچنین هر دو نوع فراموشی قبلی و بعدی می‌شوند (۱۶،۱۵). برعکس، آنتاگونیست‌های بنزودیازپینی از قبیل فلومازنیل که باعث افزایش سطح هوشیاری می‌شوند، اختلال حافظه و یادگیری ایجاد شده توسط داروهای بنزودیازپینی را بهبود می‌بخشند (۱۱). بنابراین می‌توان انتظار داشت که نورهارمان به عنوان آنتاگونیست معکوس گیرنده‌های بنزودیازپینی ضمن افزایش سطح هوشیاری، حافظه و یادگیری را بهبود بخشد. از این نظر نتایج مطالعه‌ی حاضر با نتایج محققانی که نشان داده‌اند داروهای بنزودیازپینی موجب اختلال در یادگیری و حافظه می‌شوند و برعکس آنتاگونیست‌های بنزودیازپینی باعث بهبود یادگیری و حافظه می‌گردند، همخوانی دارد (۱۲،۱۱). همچنین نتایج مطالعه‌ی حاضر، با نتایج گراس و همکاران مطابقت داشت. آن‌ها نشان دادند ۹- متیل کاربولین (برخلاف بسیاری از بتاکاربالین‌های دیگر که اثرات نوروتوکسیک از خود نشان می‌دهند) بر نورون‌های دوپامینرژیک در محیط کشت سلولی اثر تحریکی دارد و تزریق زیرجلدی مزمن

۱۰ روزه‌ی این دارو در موش‌ها ضمن بهبود یادگیری فضایی، باعث افزایش سطح دوپامین و افزایش میزان تکثیر دندریت‌ها و سیناپس‌ها در هیپوکامپ می‌شود (۹). از طرفی دیگر، نتایج ما با نتایج محققانی که نشان داده‌اند تحریک مسیر اولیوسربلار منجر به افزایش سطح دوپامین (یکی دیگر از بتاکاربولین‌ها) باعث اختلال در یادگیری و حافظه‌ی فضایی می‌شود، مغایرت دارد (۱۷). به عقیده‌ی آن‌ها مسیر اولیوسربلار باید فعالیت طبیعی خود را داشته باشد تا یادگیری و حافظه روند طبیعی و مطلوبی را داشته باشند و چنانچه این مسیر تحریک یا مهار شود، حافظه و یادگیری مختل می‌شود. مطالعه‌ی آن‌ها نشان داد هارمالین در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از طریق فعال کردن زیتون تحتانی موجب اختلال در زمان بستن پلک ( rabbit's nictitating) می‌شود (۱۷). همچنین با نتایج محققانی که نشان داده‌اند هارمان از طریق اختلال در سیستم دوپامینرژیک و کولینرژیک باعث اختلال در حافظه شده و موجب فراموشی می‌گردد، مغایرت دارد (۱۸،۱۴). احتمالاً دلیل مغایرت نتایج ما با نتایج این محققان به خاطر اختلاف در دوز مصرفی و مدت پژوهشی استفاده‌شده در این تحقیقات می‌باشد. دوز مصرفی نورهارمان در تحقیقات صورت گرفته‌ی قبلی از ۲ دهم تا ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌باشد (۱۳). نتایج تحقیقات قبلی نشان داده است که اثرات نورهارمان و بقیه‌ی بتاکاربولین‌ها وابسته به دوز است. به همین خاطر ما دوزهای پایین آن را مورد استفاده قرار دادیم تا اثرات دوز پایین آن را بر ذخیره‌ی حافظه مورد ارزیابی قرار داده باشیم. دوز مصرفی ما کم و بین ۵ دهم تا حداکثر ۲ میلی‌گرم بود، ولی دوز مصرفی محققان بالا (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بوده است. احتمالاً نورهارمان مورد استفاده در تحقیق ما در دوز کم با اثر ضد التهابی و محافظت‌کنندگی که برای نورون‌های مغز دارد، باعث افزایش سطح دوپامین و افزایش میزان تکثیر دندریت‌ها و سیناپس‌ها در هیپوکامپ و سایر نقاط مهم درگیر در فرایند یادگیری و حافظه‌ی موش‌ها می‌شود و

است که نورهارمان اگرچه در دوز بالا باعث اختلال در یادگیری و حافظه‌ی موش‌ها می‌شود، ولی در دوز کم باعث افزایش سطح دوپامین و افزایش میزان تکثیر دندریت‌ها و سیناپس‌ها در نواحی درگیر در فرایند یادگیری و حافظه می‌شود و از این طریق یادگیری و حافظه را در موش‌ها بهبود می‌بخشد و بنابر این ممکن است دوز کم آن در درمان بیماران الزایمری مفید باشد. برای مشخص شدن مکانیسم مولکولی و عصبی نحوه‌ی عمل نورهارمان و تاثیرات درمانی آن در بیماران الزایمری نیاز به تحقیقات بیشتر و کارآزمایی بالینی در آینده دارد.

از این طریق یادگیری و حافظه را در موش‌ها بهبود می‌بخشد (۹،۶). برعکس بتاکاربولین‌های مصرفی آنها در دوز بالا با اثر سمیتی که برای نورون‌ها دارند، باعث اختلال بیشتر در یادگیری و حافظه‌ی فضایی موش‌ها شده‌اند (۱۹،۱۷). همچنین ممکن است بتاکاربولین‌ها در غلظت بالا از طریق مهار آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز و نتیجتاً اختلال در عمل سیستم نیتریک اکساید، باعث اختلال در یادگیری و حافظه‌ی موش‌ها شده‌اند. چراکه عملکرد طبیعی سیستم نیتریک اکساید نیز برای یادگیری و حافظه لازم است (۲۱،۲۰).

نتیجه‌گیری کلی از تحقیق ما که با استفاده از نورهارمان و یادگیری احترازی غیرفعال به‌دست آمد، این

## References

- Hung DZ, Tsai WJ, Deng JF. Anterograde amnesia in triazolam overdose despite flumazenil treatment: a case report. *Hum Exp Toxicol.* 1992; 11(4):289–90.
- Patel JB, Ciofolo VB, Iorio LC. Benzodiazepine blockade of passive-avoidance task in mice: a state-dependent phenomenon. *Psychopharmacology (Berl).* 1979; 61(1):25–8.
- Singh N, Sharma A, Singh M. Possible mechanism of alprazolam-induced amnesia in mice. *Pharmacology.* 1998; 56:46–50.
- Saraf MK, Kishore K, Thomas KM, Sharma A, Singh M. Role of platelet activating factor in triazolobenzodiazepines-induced retrograde amnesia. *Behav Brain Res.* 2003;142(1-2):31–40.
- Cain DP. Prior non-spatial pretraining eliminates sensorimotor disturbances and impairments in water maze learning caused by diazepam. *Psychopharmacology (Berl).* 1997; 130(4):313–9.
- Samardžić J, Strac DŠ, Obradović M, Oprić D, Obradović DI. DMCM, a benzodiazepine site inverse agonist, improves active avoidance and motivation in the rat. *Behav Brain Res.* 2012; 235(2): 195–9.
- Spletstoesser F, Bonnet U, Wiemann M, Bingmann D, Büsselberg D. Modulation of voltage-gated channel currents by harmaline and harmane. *Br J Pharmacol.* 2005; 144(1):52-8.
- Collins MA, Neafsey EJ. Potential neurotoxic “agents provocateurs” in Parkinson’s disease. *Neurotoxicology and Teratology.* 2002; 24: 571-7.
- Gruss M, Appenroth D, Flubacher A, Enzensperger C, Bock J, Fleck C, et al. 9-Methyl- $\beta$ -carboline-induced cognitive enhancement is associated with elevated hippocampal dopamine levels and dendritic and synaptic proliferation. *J Neurochem.* 2012; 121 (6): 924-31.
- Venault P, Chapouthier G. From the Behavioral Pharmacology of Beta-Carbolines to Seizures, Anxiety, and Memory. *The Scientific World Journal.* 2007; 7: 204–23.
- Rinehart JB, Baker B, Raphael D. Postoperative global amnesia reversed with flumazenil. *Neurologist.* 2012; 18 (4): 216-8.
- Anand A, Saraf MK, Prabhakar S. Sustained inhibition of brotizolam induced anterograde amnesia by norharmane and retrograde amnesia by L-glutamic acid in mice. *Behav Brain Res.* 2007; 182(1): 12-20.
- Cappendijk SL, Fekkes D, van Dalen A, Peplinkhuizen L. The acute effects of norharman on cocaine self-administration and sensorimotor function in male Wistar rats. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2001; 11(3):233-9.
- Nasehi M, Piri M, Nouri M, Farzin D, Nayer-Nouri T, Zarrindast MR. Involvement of dopamine D1/D2 receptors on harmane-induced amnesia in the step-down passive avoidance test. *Eur J Pharmacol.* 2010; 634 (1-3): 77-83.
- Mejo SL. Anterograde amnesia linked to benzodiazepines. *Nurse Pract.* 1992; 17(44):49–50.
- Timić T, Joksimović S, Milić M, Divljaković J, Batinić B, Savić MM. Midazolam impairs acquisition and retrieval, but not consolidation of reference memory in the Morris water maze. *Behav Brain Res.* 2013; 241: 198-205.

17. Beitz AJ, Saxon D. Harmaline-induced climbing fiber activation causes amino acid and peptide release in the rodent cerebellar cortex and a unique temporal pattern of Fos expression in the olivo-cerebellar pathway. *J Neurocytol.* 2004; 33 (1): 49-74.
18. Nasehi M, Sharifi S, Zarrindast MR. Involvement of the cholinergic system of CA1 on harmaline-induced amnesia in the step-down passive avoidance test. *J Psychopharmacol.* 2012; 26 (8): 1151-61.
19. Ipek Komsuoglu C, Utkan T, Gocmez SS, Hudson A, Aricioglu F. Effect of harmaline, an endogenous  $\beta$ -carboline, on learning and memory in rats. *Pharmacol Biochem Be.* 2013; 103: 666-71.
20. Cooke RM, Mistry R, Challiss RA, Straub VA. Nitric oxide synthesis and cGMP production is important for neurite growth and synapse remodeling after axotomy. *J Neurosci.* 2013; 33 (13): 5626-37.
21. Nasehi M, Piri M, Jamali-Raeufy N, Zarrindast MR. Influence of intracerebral administration of NO agents in dorsal hippocampus (CA1) on cannabinoid state-dependent memory in the step-down passive avoidance test. *Physiol Behav.* 2010; 100 (4): 297-304.

# Effects of Norharmane on Memory Retention in Passive Avoidance Learning in Rats

\**Mohammad Hossein Esmaeili,*

Associate Professor of Medical Physiology, Department of Physiology, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

*Mohammad Sofiabadi,*

Associate Professor of Medical Physiology, Department of Physiology, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

*Hashem Haghdoost,*

Assistant professor of physiology, Department of Physiology, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

*Aida Lotfi,*

Student of medicine Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

*Mahshid Najafi,*

Student of medicine, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

Received:27/02/2015, Revised:01/05/2015, Accepted:04/07/2015

## Corresponding author:

Mohammad Hossein Esmaeili,  
Qazvin University of Medical  
Sciences, Qazvin, Iran  
E-mail: esmail66@yahoo.com

## Abstract

**Background & Objectives:** Although benzodiazepine drugs have notably anxiolytic and amnesic properties, some of  $\beta$ -carbolines, as their inverse agonists, have a stimulating effect on the dopaminergic system and also increase dopamine levels in hippocampus, and could exert anxiogenic and learning-enhancing actions. The goal of present study was to investigate the effects of benzodiazepine receptor inverse agonist Norharmane on memory retention of passive avoidance learning in rats.

**Materials & Methods:** 40 male wistar rats were divided into control, alcohol and norharmane groups. All rates were trained in a passive avoidance task (50Hz, 1mA, for 3sec). Alcohol (0.2ml) or Norharmane (0.5, 1, 2 mg/kg, i.p.) were injected immediately after training. Retention test was done 48h later. Memory retention of each animal was measured as latency takes to enter the dark chamber of the task.

**results:** After-training injection of Norharmane improves memory retention in a dose-dependent manner, So that the time spent in the light chamber area before entering to the dark area and Total time spent in the light chamber in the norharmane groups were more than control group. These times in the norharmane (2 mg/kg) group was significantly higher than control group ( $p < 0.001$ )

**Conclusion:** According to the findings, Norharmane, as inverse agonists of benzodiazepine receptors in the low doses, through GABA receptors stimulation, improves memory retention and so may be useful for memory improvement.

**Keywords:** *Norharmane, Passive avoidance learning, Memory retention.*