

نقش پیشگیری کننده‌ی نانو ذرات اکسید منیزیم در فراموشی ناشی از مورفین در موش کوچک آزمایشگاهی

مریم عبدالله زاده دشتی^۱، مهناز کسمتی^{۲*}، لطف‌الله خواجه‌پور^۳ و حسین نجف‌زاده‌ورزی^۴

تاریخ دریافت: ۹۲/۷/۱۳

تاریخ پذیرش: ۹۳/۱/۱۹

چکیده

مصرف قبل و بعد از آموزش آگونیست‌های اوپیوئیدی مانند مورفین باعث تخریب حافظه می‌شود. برخی مکمل‌های منیزیم اشکال مختلف حافظه از قبیل حافظه‌ی کوتاه مدت، بلند مدت و کارکردی را بهبود می‌بخشند، اما دشواری ورود منیزیم از سد خونی مغزی، استفاده از این یون را با محدودیت روبرو ساخته است. نانو ذرات معدنی مانند نانو ذرات اکسید منیزیم به دلیل خاصیت فیزیکوشیمیایی منحصر به فرد به راحتی از سد های بیولوژیک عبور می‌کنند، اما نقش آن‌ها در حافظه و فراموشی مشخص نیست. در مطالعه‌ی حاضر اثر نانو ذرات اکسید منیزیم بر فراموشی ناشی از مورفین بررسی شده است. در مطالعه‌ی حاضر از موش‌های سوری نر در محدوده‌ی وزنی ۲۵-۳۰ گرم، در ۱۲ گروه شامل کنترل، دریافت کننده‌ی مورفین در دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و دریافت کننده‌ی نانو اکسید منیزیم در دوزهای ۱، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و نانو اکسید منیزیم مطالعه شدند. برای ارزیابی حافظه‌ی احترازی غیرفعال از دستگاه استپ داون استفاده شد. نتایج نشان داد مورفین در تجویز پس از آموزش در مقدار ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث فراموشی قابل ملاحظه‌ای می‌گردد. نانو اکسید منیزیم در مقادیر ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در تزریق پس از آموزش سبب بهبودی حافظه‌ی احترازی غیر فعال شد، ولی بر فعالیت حرکتی حیوان بی‌تأثیر بود و در مقادیر فوق از فراموشی ناشی از مورفین ممانعت نمود. به نظر می‌رسد نانو اکسید منیزیم با عبور از سد خونی - مغزی و دخالت در مسیرهای حافظه از بروز مکانیسم‌های مرتبط با فراموشی ناشی از مورفین پیشگیری می‌نماید.

کلمات کلیدی: نانو ذرات اکسید منیزیم، مورفین، حافظه، موش سفید کوچک

مقدمه

زیادی نشان داده‌اند که تزریق محیطی و مرکزی مورفین پیش و یا پس از آموزش مورفین موجب القا فراموشی می‌شود، به طوری که تزریق پیش و یا پس از آموزش حافظه را در مدل یادگیری اجتنابی مهار استپ ثرو و استپ داون تخریب می‌کند (Darbandi et al. 2008). به نظر می‌رسد که گیرنده‌های مو اوپیوئیدی که به طور گسترده‌ای در ناحیه‌ی هیپوکامپ بیان شده‌اند نقش مهمی در این آثار مورفین ایفا می‌کنند (Jeugd et al. 2011). مورفین با اتصال به گیرنده‌ی خود در نورون پیش سیناپسی

اوپیوئیدها تأثیرات بسیار زیادی بر فرآیندهای بدن از جمله حافظه و یادگیری می‌گذارند. اوپیوات‌ها دارای گیرنده‌هایی هستند که به طور وسیعی در سیستم عصبی مرکزی و بافت‌ها از جمله تالاموس، هیپوکامپ، آمیگدال و هسته اکومبنس توزیع شده‌اند. این گیرنده‌ها به سه دسته اصلی مو، کاپا و دلتا تقسیم می‌شوند (Rezayof et al. 2007). مورفین یک آکالوئید و آگونیست اصلی گیرنده‌ی مو می‌باشد (Kahveci et al. 2006) که اثرات مثبت و منفی بر فرآیندهای حافظه و یادگیری دارد. آزمایش‌های

^۱ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز

^{۲*} دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز

^۳ دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز

^۴ استاد گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

ترکیبات از سد خونی - مغزی مشاهده نشده و اخیراً ترکیبی جدید از منیزیم به نام (magnesium-L- MgT treonate) بررسی شده که با افزایش ۱۵ درصد در منیزیم مایع مغزی نخاعی، باعث بهبود حافظه شده است (Slutsky et al. 2010).

تولید نانو ذرات در فناوری نانو، امیدهای تازه‌ای را در درمان بیماری‌های مختلف ایجاد نموده است. از خصوصیات منحصر به فرد این نانو ذرات به دلیل ریز ذره بودن، حلالیت بیشتر، عبور راحت‌تر از سد خونی مغزی و واکنش‌پذیری بیشتر می‌باشد (Archakov 2010, Prasad 2009). اخیراً از نانو ذرات اکسیدهای فلزی جهت اهداف مختلف در علم پزشکی استفاده می‌شود، اما تحقیقات محدودی در زمینه‌ی اثرات فیزیولوژیک این نانو ذرات در بدن صورت گرفته است. از آن جایی که این نانو ذرات دارای ویژگی‌های فیزیوشیمیایی منحصر به فردی هستند که با نوع معمولی خود متفاوت می‌باشند، بررسی دقیق اثرات مفید و مضر آن‌ها به ویژه بر فرآیندهای نوروفیزیولوژیک مغز ضروری می‌نماید.

با توجه به احتمال تداخل اثر مورفین و منیزیم به علت داشتن هدفی مشترک، و با در نظر گرفتن ویژگی‌های نانو ذرات و ضرورت پرداختن به این مواد در فرآیندهای نوروفیزیولوژیک، در این مطالعه اثر نانو ذرات اکسید منیزیم بر روند حافظه و فراموشی ناشی از مورفین بررسی شده است.

مواد و روش کار

در این مطالعه‌ی تجربی از موش سوری نر بالغ در محدوده‌ی وزنی ۲۵-۳۰ گرم تهیه شده از مرکز تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز استفاده گردید. تمام حیوانات در خانه‌ی حیوانات در وضعیت ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، دمای 23 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. آزمایش‌های حافظه در دوره‌ی روشنایی و در محدوده‌ی ساعت ۴-۸ انجام شد.

عمل گیرنده‌هایی مانند ان‌متیل‌دی‌آسپاراتات (NMDA) هیپوکمپ را که نقش مهمی در فرایندهای یادگیری و حافظه دارد، مهار می‌کند (Dalmaz 1993).

از میان عوامل متعددی که بر حافظه و یادگیری تأثیر می‌گذارد، منیزیم یکی از مواد ضروری برای عملکرد طبیعی آن است. منیزیم چهارمین کاتیون مهم بدن و دومین کاتیون مهم داخل سلولی پس از پتاسیم محسوب می‌شود (Slutsky et al. 2010). این عنصر به عنوان عامل مهمی جهت فعالیت عصبی و آزادسازی نوروترانسمیترها عمل می‌کند (Liu 2012). یکی از عملکردهای مهم منیزیم شرکت در مسیر هدایت سیستم عصبی و به عنوان یکی از مهم‌ترین ریزمغذی‌ها برای فعالیت پایه‌ی مغزی است. منیزیم بر گیرنده NMDA اثر می‌گذارد. منیزیم در کانال کاتیونی گیرنده NMDA جایگاهی دارد و در پتانسیل استراحت منیزیم این گیرنده را بلوک می‌کند (Slutsky et al. 2010). افزایش منیزیم در مغز باعث افزایش بلوک شدن کانال‌های این گیرنده و منجر به تنظیم کاهش گیرنده‌ی فوق می‌شود (Liu 2012) و بلوک این گیرنده فرآیندهای حافظه را دچار اختلال می‌کند. بدین ترتیب، گیرنده‌های NMDA از اهداف مشترک مورفین و منیزیم در سیستم عصبی مرکزی می‌باشند و بین عملکرد این دو در فرآیندهای حافظه و یادگیری تداخل اثری وجود دارد که اطلاعات چندانی در این زمینه یافت نشده است. قابل ذکر است، منیزیم توانایی اندکی در عبور از سد خونی - مغزی دارد و حتی تزریق درون وریدی منیزیم سبب افزایش اندکی در منیزیم مایع مغزی نخاعی می‌شود (Slutsky et al. 2010). با توجه به این موضوع، مصرف محیطی منیزیم به دلیل محدودیت در عبور از سد خونی - مغزی مشکل اساسی برای درمان‌های حاصل از کمبود منیزیم در سیستم عصبی مرکزی محسوب می‌شود. ترکیبات مختلف منیزیم از قبیل سترات منیزیم، کلرید منیزیم، گلوکونات منیزیم جهت افزایش منیزیم مایع مغزی - نخاعی بررسی شده‌اند (Slutsky et al. 2010) ولی تا کنون اثربخشی مطلوبی به دلیل نفوذپذیری بسیار کم این

برای توقف موش روی سکو حداکثر ۳۰۰ ثانیه بود. حیوانی که به یاد می‌آورد که روی کف دستگاه، شوک دریافت کرده تمایلش برای پایین آمدن از سکو مهار شده و از ورود به آن اجتناب می‌کند (روش اجتنابی مهار) و افزایش زمان تأخیر حیوان در پایین آمدن از سکو نشان دهنده‌ی بهبود حافظه است، در حالی که کاهش زمان تأخیر در پایین آمدن از سکو و کاهش زمان ماندن روی سکو حاکی از تضعیف حافظه است. تست حرکتی برای اطمینان از عدم تأثیر دارو بر فعالیت حرکتی برای هر حیوان ۲۴ ساعت بعد از تزریق دارو بلافاصله بعد از تست حافظه توسط دستگاه open field انجام شد. این دستگاه جعبه‌ای از جنس پلکسی گلاس به طول و عرض و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر بود که روی یک صفحه چوبی قرار دارد. این صفحه چوبی با دو خط متقاطع به چهار قسمت تقسیم شد. روش کار این دستگاه به این صورت است که هرگاه سر و دو اندام جلویی حیوان از یکی از این خطوط عبور کند یک شماره برای حیوان در نظر گرفته می‌شود. تعداد خطوط قطع شده در یک دوره‌ی زمانی معین یا جابجایی حیوان، نمودی از فعالیت حرکتی حیوان را به دست خواهد داد. هنگام انجام دادن آزمایش‌ها برای عادت کردن حیوان به محیط دستگاه هر حیوان به مدت ۱۰ دقیقه در داخل دستگاه به حال خود رها شد و بعد فعالیت حرکتی طی ۳۰۰ ثانیه بلافاصله بعد از آزمون حافظه اندازه‌گیری شد (Farokhi et al. 2007).

داروها و روش تزریق

آزمایش‌ها و گروه‌بندی

آزمایش اول اثر غلظت‌های مختلف نانو اکسید منیزیم را بر حافظه بررسی کرد. در این بخش یک گروه به عنوان شاهد بعد از آموزش سالین دریافت کردند و چهار گروه دیگر بعد از آموزش نانو اکسید منیزیم را در مقادیر ۱، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت نمودند (Jahangiri et al. 2013). آزمایش دوم جهت مشاهده اثر مورفین در کاهش حافظه انجام گرفت. در این آزمایش

ارزیابی حافظه اجتنابی غیر فعال با استفاده از دستگاه استپ داون که جعبه‌ای از جنس پلکسی گلاس و به ابعاد ۳۰×۳۰×۴۰ سانتی‌متر می‌باشد، انجام گرفت. کف دستگاه از میله‌های فلزی فولادی به قطر ۰/۳ سانتی‌متر با فاصله ۱ سانتی‌متر از هم ساخته شده بود و در مرکز سکوی چوبی به ابعاد ۴×۴×۴ سانتی‌متر قرار داشت شوک الکتریکی با مشخصات ۵۰ ولت و فرکانس ۱ هرتز به مدت ۱۵ ثانیه به وسیله‌ی یک استیمولاتور به میله‌های کف جعبه انتقال داده می‌شد که سبب انتقال شوک به دست و پای حیوان می‌گردید (Joshi and Parle 2007, Narwal et al. 2012).

مرحله‌ی اول، مرحله‌ی آموزش حیوانات بود. در این مرحله حیوانات به آرامی روی سکوی کف جعبه قرار داده می‌شدند و تأخیر در پایین رفتن با چهار دست و پا روی میله‌های فلزی کف جعبه برای هر حیوان با زمان‌سنج ثبت می‌شد؛ بلافاصله بعد از پایین رفتن حیوان از سکو یک شوک الکتریکی با مشخصاتی که ذکر شد به مدت ۱۵ ثانیه به طور پیوسته به میله‌های کف جعبه وارد شد و پس از آن حیوان از جعبه خارج شد. بعد از اتمام آموزش مرحله‌ی اول، حیوانات به قفس نگهداری منتقل شدند و ۹۰ دقیقه بعد آموزش مرحله‌ی دوم روی آن‌ها انجام شد. در این مرحله حیوانی که ۶۰ ثانیه کامل را روی سکو می‌گذراند از دستگاه خارج می‌شد و شوکی به آن وارد نمی‌شد که نشان دهنده‌ی این بود که یادگیری اجتنابی مهار در موش شکل گرفته است. حیواناتی که کمتر از ۶۰ ثانیه روی سکو مانده بودند به منزله‌ی عدم یادگیری در آموزش اول بود و شوک مجدد به آن‌ها وارد می‌شد. بعد از آموزش دوم، حیوان خارج می‌شد و تزریق‌های پس از آموزش روی آن انجام می‌گرفت (Joshi and Parle 2007, Narwal et al. 2012). مرحله‌ی آزمون برای سنجش حافظه‌ی طولانی مدت ۲۴ ساعت بعد از جلسه‌ی آموزش انجام گرفت و از نظر روش کاملاً مشابه روز آموزش بود. به استثنای این که در روز آزمون از شوک الکتریکی استفاده نشد. در این مرحله سقف زمانی

تمام بررسی‌های آماری $p < 0/05$ معیار تفاوت آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

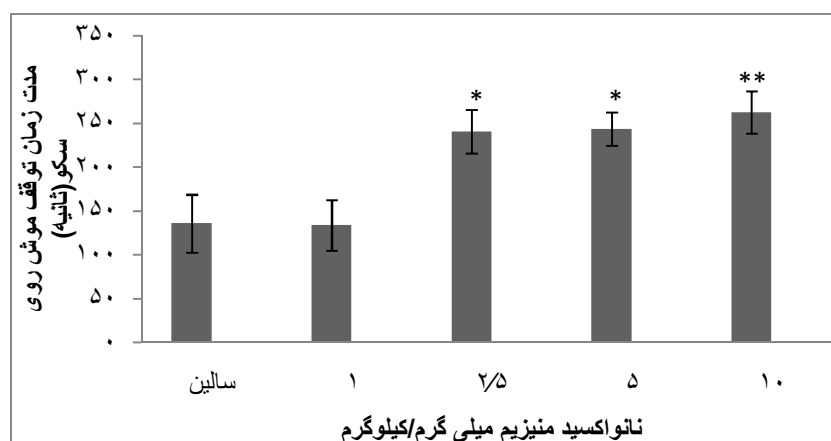
اثر تجویز نانواکسید منیزیم بر حافظه احترازی غیرفعال اثرات تزریق پس از آموزش درون صفاقی مقادیر مختلف نانواکسید منیزیم ۱، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در شکل ۱ نشان داده شده است. همچنان که مشاهده می‌شود نانواکسید منیزیم در سه مقدار ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با افزایش زمان ماندن روی سکو سبب بهبود حافظه شده است. شایان ذکر است مقدار ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیش‌تر سبب بهبود حافظه شده است و مقدار ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم، مقدار غیر مؤثر نانواکسید منیزیم بود. برای تمام گروه‌ها تست حرکتی در دستگاه میدان باز جهت اطمینان از عدم تأثیر دارو بر حرکت حیوان انجام گرفت که همان‌طور که در شکل ۲ نمایش داده شده است تزریق دارو تأثیری را بر فعالیت حرکتی اعمال نکرده است و تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های دریافت‌کننده نانواکسید منیزیم با گروه کنترل مشاهده نمی‌شود.

نیز یک گروه به عنوان کنترل پس از آموزش سالین و ۲ گروه دیگر نیز مورفین را در مقادیر ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم جهت کاهش حافظه پس از آموزش دریافت نمودند.

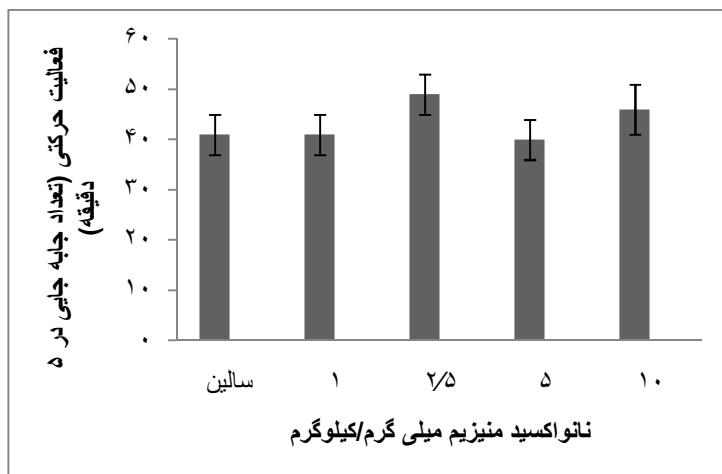
آزمایش سوم جهت بررسی تداخل عمل بین نانو ذرات اکسید منیزیم و مورفین انجام گرفت. یک گروه دریافت‌کننده مورفین - سالین و چهار گروه دیگر در ابتدا منیزیم را در مقادیر ۱، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و ۱۰ دقیقه بعد مورفین ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت نمودند. لازم به ذکر است که کلیه مقادیر نانو اکسید منیزیم در ۱۰ میلی‌لیتر سالین حل شد و سوسپانسیون به دست آمده که روزانه تهیه می‌شد قبل از تزریق به مدت ۲۰ دقیقه در حمام اولتراسونیک سونیکه شدند. محلول‌های به دست آمده از مورفین به وسیله شیکر حل شدند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تأخیر در پایین رفتن از سکو معیار تثبیت حافظه یا عملکرد حافظه در نظر گرفته شد. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) تحلیل شدند و برای مقایسه‌ی بین گروه‌ها از آزمون توکی استفاده گردید. در



شکل ۱: اثر تزریق پس از آموزش مقادیر مختلف نانو اکسید منیزیم (۱، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بر حافظه‌ی احترازی غیرفعال در دستگاه استپ داون. هر ستون نمایانگر میانگین \pm انحراف معیار از میانگین مربوط به ۷ سر موش است. تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های دریافت‌کننده نانواکسید منیزیم و گروه کنترل وجود دارد، $p < 0/01$ **، $p < 0/05$ * در مقایسه با گروه سالین.

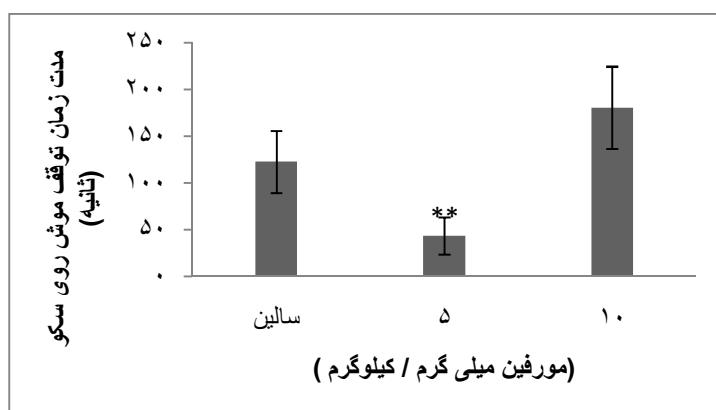


شکل ۲: اثر تزریق پس از آموزش مقادیر مختلف نانو اکسید منیزیم (۱، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بر فعالیت حرکتی موش سوری در آزمون میدان باز، هر ستون نمایانگر میانگین ± انحراف معیار از میانگین مربوط به ۷ سر موش است. تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های دریافت‌کننده‌ی نانو اکسید منیزیم و گروه کنترل وجود ندارد.

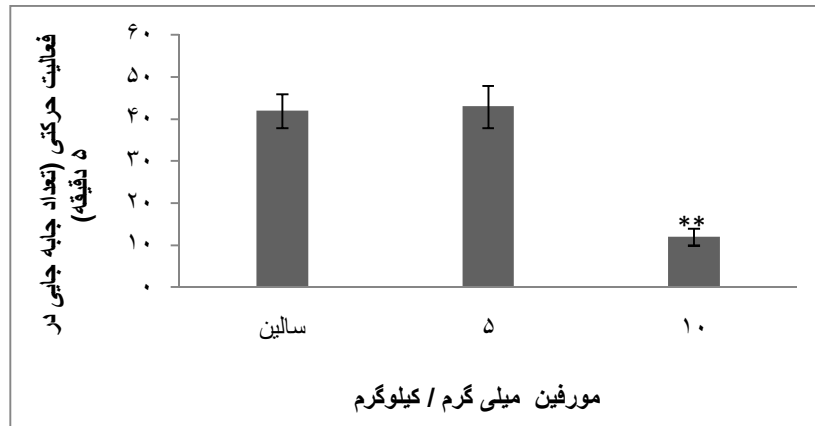
در گروه دریافت‌کننده‌ی مورفین ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم همان‌طور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود تزریق پس از آموزش مورفین ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم سبب کند شدن حیوانات و کاهش چشمگیر حرکات در تست حرکتی شده است؛ بنابراین جهت ادامه کار از مقدار ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم آن استفاده شد.

اثر تجویز پس از آموزش مورفین بر حافظه‌ی احترازی غیرفعال

در شکل ۳ با تزریق پس از آموزش غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مورفین کاهش حافظه‌ی اجتنابی غیرفعال را در موش‌های دریافت‌کننده‌ی مورفین ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه سالیین مشاهده می‌شود.



شکل ۳: اثر تزریق پس از آموزش مقادیر ۵ و ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم مورفین بر حافظه‌ی احترازی غیرفعال در دستگاه استپ داون. هر ستون نمایانگر میانگین ± انحراف معیار از میانگین مربوط به ۷ سر موش است. تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های دریافت‌کننده‌ی مورفین و گروه کنترل وجود دارد. $P < 0.01$ ** در مقایسه با گروه سالیین-سالیین.



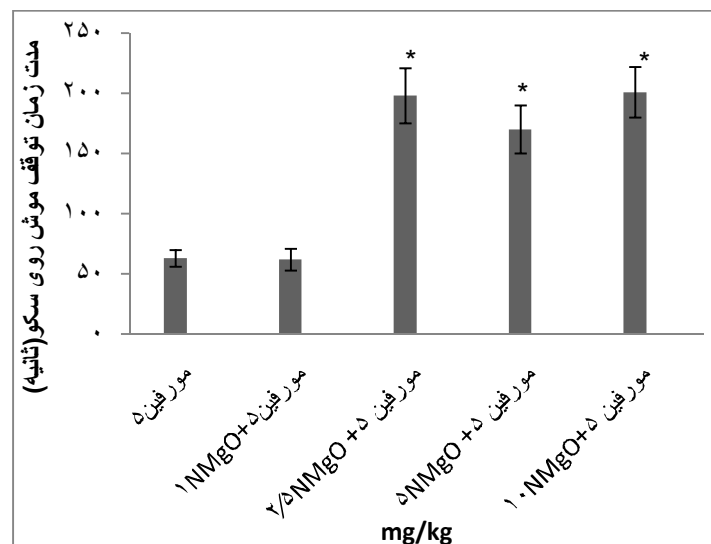
شکل ۴: اثر تزریق پس از آموزش مقادیر مختلف مورفین (۵ و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بر فعالیت حرکتی موش سوری در تست میدان باز، هر ستون نمایانگر میانگین ± انحراف معیار از میانگین مربوط به ۷ سر موش است. اختلاف معنی داری بین گروه دریافت کننده مورفین ۱۰ و گروه کنترل وجود دارد. $P < 0.01$ در مقایسه با گروه سالین-سالین.

مخرب مورفین بر حافظه ممانعت به عمل آورد و مانع از فراموشی ناشی از مورفین شود، ولی مقدار ۱ میلی گرم بر کیلوگرم آن هیچ تأثیری را نشان نداد. شکل ۶ میزان فعالیت حرکتی را در گروه‌های فوق نشان می‌دهد. آزمون‌های آماری هیچ تفاوت معنی داری را در حرکات گروه‌های فوق نشان نداد.

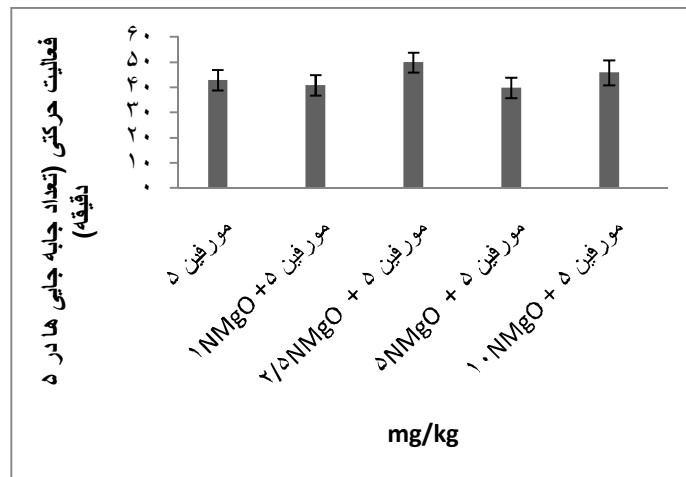
اثر تجویز پس از آموزش غلظت‌های مختلف نانو اکسید

منیزیم بر جلوگیری از فراموشی ناشی از مورفین

شکل ۵ اثر تزریق مقادیر مختلف نانو اکسید منیزیم را در حضور مورفین ۵ میلی گرم در مقایسه با مورفین به تنهایی نشان می‌دهد. هم‌چنان که مشاهده می‌شود غلظت‌های ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم نانو اکسید منیزیم با افزایش توقف موش‌ها روی سکو توانست از اثر



شکل ۵: اثر تزریق مقادیر مختلف نانو اکسید منیزیم (۱، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) در حضور مورفین (۵ میلی گرم بر کیلوگرم) بر حافظه احترازی غیرفعال در دستگاه استپ داون. هر ستون نمایانگر میانگین ± انحراف معیار از میانگین مربوط به ۷ سر موش است. $p < 0.05$ در مقایسه با گروه سالین-مورفین



شکل ۶: اثر تزریق پس از آموزش مقادیر مختلف نانو اکسید منیزیم (۱، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) قبل از مورفین بر فعالیت حرکتی موش سوری در مقایسه با گروه دریافت‌کننده‌ی مورفین ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در تست میدان باز، هر ستون نمایگر میانگین \pm انحراف معیار از میانگین مربوط به ۷ سر موش است.

بحث

شکل‌گیری تقویت طولانی مدت پتانسیل پس‌سیناپسی (LTP) ضروری می‌باشند. همه‌ی این عوامل سبب القای اثرات مهارى در سلول می‌شود و تضعیف حافظه‌ی ناشی از تزریق حاد مورفین را توجیه می‌کند.

هم‌چنین نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که تجویز پس از آموزش نانو اکسید منیزیم باعث بهبود حافظه‌ی بلندمدت می‌شود که با یافته‌های محدود سایر محققین مبنی بر اثر بهبوددهندگی برخی ترکیبات حاوی منیزیم مانند MgT بر حافظه مطابقت دارد (Slutsky et al. 2010) که به نظر می‌رسد عنصر منیزیم این عمل را انجام داده باشد. اگرچه اطلاعات زیادی مبنی بر میزان منیزیم رها شده از نانو اکسید منیزیم در مغز یافت نشده است، اما بهبود حافظه حاصله در این مطالعه این احتمال را ایجاد می‌کند که ممکن است منیزیم و یا نانو اکسید منیزیم از سد خونی مغزی عبور کرده و وارد مغز شده باشد و یا این که از طریق محیطی با واسطه‌ای فرآیند تثبیت حافظه را تحت تأثیر قرار داده باشد. پس احتمال می‌رود بخشی از اثر بهبود دهندگی نانو اکسید منیزیم بر حافظه به دلیل عبور راحت‌تر این نانو دارو از سد خونی مغزی به خاطر خصوصیت مهم این نانو مواد، یعنی بالاتر بودن نسبت

در این مطالعه نشان داده شد که تجویز حاد و زیرجلدی مورفین پس از آموزش در موش‌ها سبب تخریب حافظه می‌شد. این نتیجه با نتایج تحقیقات مشابه هم‌خوانی دارد (Li et al. 2001, Zhu et al. 2011)، زیرا همان‌طور که پژوهش‌های پیشین نشان داده مورفین با اثر بر گیرنده‌ی خود در نورون پیش سیناپسی منجر به مسدود کردن کانال وابسته به ولتاژ یون کلسیم در انتهای پیش-سیناپسی نورون‌ها می‌شود و در نتیجه رهاسازی نوروترانسمیترهایی از جمله نوروترانسمیترهای تحریکی در فرایندهای حافظه مانند گلوتامات و استیل کولین کاهش می‌یابد که این دو نوروترانسمیتر برای انتقال اطلاعات و شکل‌گیری حافظه ضروری می‌باشند (Trigoa et al. 2010). از طرف دیگر مورفین موجب باز شدن کانال‌های یون پتاسیم (به ویژه کانال‌های KATP) و به موجب آن هیپر پلاریزاسیون و مهار پس‌سیناپسی نورونی (Williams et al. 2001) می‌شود که تغییر در فعالیت KATP می‌تواند یادگیری اجتنابی مهارى را تحت تأثیر قرار دهد (Zarindast et al. 2004). هم‌چنین مورفین می‌تواند منجر به مهار آدنیلیل سیکلاز و در نتیجه کاهش CAMP و PKA شود (William et al. 2001) که برای

مانند (Brain derived neurotrophic factor) BDNF گردد که این پروتئین در تشکیل سیناپس‌های جدید، حیات سلولی و انعطاف‌پذیری سلول نقش دارد (Wei et al. 2013).

از طرف دیگر مشاهده شده است افزایش منیزیم مغزی منجر به افزایش بیان انتخابی زیرواحدهایی از گیرنده‌ی NMDA به نام (NR2B) می‌شود (Slutsky et al. 2010) که افزایش بیان این زیر واحد سبب افزایش فعالیت و جریان از طریق گیرنده‌ی NMDA می‌شود، این در حالی است که القا LTP در سیناپس‌های مسیر پرفورانت-شکنج دندانه‌ای و سیناپس‌های گروه‌های شافر ناحیه‌ی CA1 به گیرنده‌های گلوتاماتی NMDA وابسته است (Thomas et al. 2012, Reisinger et al. 1996) و گیرنده‌ی NMDA در این ناحیه نقش مهمی در تنظیم انعطاف‌پذیری سیناپسی و فرایندهای یادگیری و حافظه ایفا می‌کند (Burce et al. 2008). افزایش بیان زیر واحد NR2B توسط منیزیم به عنوان یک مکانیسم هم‌مستسازی معرفی شده که نه تنها فعالیت این گیرنده را که در طول پتانسیل استراحت توسط منیزیم کاهش یافته بود به سطح اولیه برمی‌گرداند، بلکه سبب جریان بیش‌تر از طریق این گیرنده نیز می‌شود که کاهش جریان اولیه‌ی ایجاد شده در پتانسیل استراحت را جبران می‌نماید (Slutsky et al. 2010). هم‌چنین در سطح مولکولی، درمان با مکمل‌های منیزیم منجر به افزایش تعداد پروتئین‌های پیش سیناپسی سیناپتوفیزین و سیناپتوبروین در ناحیه‌ی DG (Dantate Gyrus) و CA1 که مناطقی از هیپوکمپ هستند، می‌شود (Reisinger et al. 2004). افزایش سیناپتوفیزین و سیناپتوبروین در پایانه‌های پیش سیناپسی منجر به بهبود عملکرد حافظه می‌شود، زیرا این پروتئین‌ها در اتصال وزیکول‌های حاوی نوروترانسمیتر با غشاء و رهاسازی نوروترانسمیتر و در نهایت برقراری سیناپس با نورون پس سیناپسی نقش دارند (Thomas et al. 1996, Reisinger et al. 2004).

سطح به حجم آن‌ها در مقایسه با داروهای معمولی، افزایش حلالیت، سرعت جذب و عبور سهل‌تر آن‌ها از غشاهای بیولوژیک باشد (Archakov 2010).

از نظر مکانیسم‌های عمل منیزیم بر حافظه، پژوهش‌های پیشین نشان داده‌اند که منیزیم می‌تواند با اتصال به جایگاه خود در کانال کاتیونی گیرنده NMDA سبب مهار این گیرنده در پتانسیل استراحت شود که در ظاهر با اثر بهبود دهنده‌ی حافظه منیزیم متناقض به نظر می‌رسد. در توجیه این تناقض می‌توان گفت این گیرنده فقط در مدت زمان کوتاهی از پتانسیل سلولی، یعنی پتانسیل استراحت توسط منیزیم بلوکه می‌شود و با دیپلاریزه شدن سلول پس سیناپسی سریعاً این مهار برداشته می‌شود (Slutsky et al. 2010)، ولی این اثر تنها اثر منیزیم نیست و مشخص شده منیزیم با افزایش رهاسازی گلوتامات از پایانه‌ی عصبی می‌تواند سبب فعال شدن این گیرنده‌ها و ورود کلسیم و سدیم از طریق آن‌ها و دیپلاریزاسیون پس سیناپسی و فعال شدن سلول شود. با افزایش ورود کلسیم به داخل سلول، کلسیم می‌تواند آبشارهای داخل سلولی از قبیل cAMP، PKA و PKC را راه‌اندازی کند که بیان شده این پروتئین کینازها عامل مکانیسم درون سلولی در نگهداری طولانی مدت حافظه و LTP می‌باشند (Rolls 2010).

هم‌چنین نشان داده شده سطح فعالیت عامل رونوشت برداری CaMKII (پروتئین کیناز وابسته به کلسیم - کالمودولین) پس از القا LTP در مناطقی که مربوط به تشکیل حافظه است مانند هیپوکامپ افزایش می‌یابد و بیان شده افزایش فعالیت این عامل زمینه‌ای از القا LTP است که با افزایش منیزیم مغزی سطح این عامل نیز افزایش می‌یابد (Wei et al. 2013).

هم‌چنین با افزایش منیزیم مغزی و افزایش فعالیت گیرنده‌های NMDA و نفوذ کلسیم از طریق کانال این گیرنده‌ی کلسیم به طور مستقیم یا با فعال کردن cAMP می‌تواند سبب افزایش فعالیت عاملی به نام CREB (cAMP respond element binding) گردد که افزایش فعالیت این فاکتور می‌تواند سبب افزایش بیان پروتئین‌هایی

پایانه‌های پیش سیناپسی منجر به ترشح بیش‌تر گلوتامات، افزایش فعالیت گیرنده‌ی NMDA، القا LTP و بهبود حافظه شود (Reisinger et al. 2004) و از اثر مهارى مورفین بر رهاسازی نوروترانسمیترهایی از جمله گلوتامات و استیل کولین که برای انتقال اطلاعات و شکل‌گیری حافظه ضروری می‌باشند (Trigo et al. 2010)، ممانعت کرده باشد. البته برای روشن شدن مکانیسم دقیق تداخل اثر آن‌ها بر بررسی‌های بیش‌تری نیاز است. در نهایت می‌توان پیشنهاد کرد مسیر عمل نانوآکسید منیزیم و مورفین تا حدودی با هم تداخل دارند و نانوآکسید منیزیم احتمالاً با عبور از سد‌های بیولوژیک و دخالت بر سیستم‌های گیرنده‌ای و نوروترانسمیتری، حافظه را بهبود ببخشد و مانع بروز اثر مخرب مورفین می‌گردد، اگرچه سایر احتمالات از جمله اثر محیطی نانو اکسید منیزیم را نمی‌توان نادیده گرفت.

بدین ترتیب نتیجه‌ی اثر بهبوددهندگی نانو اکسید منیزیم بر حافظه بسیار مهم بوده و این نوید را می‌دهد که نانو ذره‌ی منیزیم نه تنها به عنوان درمان در اختلالات حافظه می‌تواند استفاده شود بلکه در سایر بیماری‌های مربوط به کمبود منیزیم قابل استفاده می‌باشد. ضمن آن که در بخش دیگری نتایج مطالعات ما نشان داد نانوآکسید منیزیم قادر است تا حدود زیادی مانع از تخریب حافظه ناشی از مورفین گردد که با توجه به مکانیسم‌های دخیل در فراموشی ناشی از مورفین و بهبود حافظه ناشی از منیزیم که پیشتر بیان شد، به نظر می‌رسد منیزیم با مکانیسمی متقابل با مورفین توانسته تأثیرات منفی آن را بر حافظه تا حدودی رفع و یا ممانعت نماید، برای مثال منیزیم ممکن است از طریق افزایش بیان زیر واحدهایی از گیرنده‌ی NMDA به نام (NR2B) (Slutsky et al. 2010) و یا افزایش پروتئین‌های سیناپتوفیزین و سیناپتوبروین در

منابع

- Archakov, A. (2010). Nanobiotechnologies in medicine: Nanodiagnosics and nano drugs. *Biomedical Chemistry*, 4(1): 2-14.
- Bruce, M.; Burce, K. and Stanton, A. (2008). *Berne & Levy physiology*. 6th ed. London. Mosby Elsevier, pp: 215-218.
- Dalmaz, C.; Introini-Collison, I.B. and McGavgh, J.L. (1993). Noradrenergic and cholinergic interactions in the amygdala and the modulation of memory storage. *Behavioural Brain Research*, 58(1-2): 167-174.
- Darbandi, N.; Rezayof, A. and Zarrindast, M.R. (2008). Modulation of morphine state-dependent learning by muscarinic cholinergic receptors of the ventral tegmental area. *Physiology and Behavior*, 94(4): 604-610.
- Farokhi, F.; Pournaghash Tehrani, S.; Sahraei, H.; Bakhtiarian, A.; Ghoshooni, H.; Fatemi, M. et al. (2007). The effects of topiramate on the acquisition and expression of morphine-induced place conditioning and behavioral sensitization in mice. *Physiology and Pharmacology*, 11(1): 19-29.
- Jahangiri, L.; Kesmati, M. and Najafzadeh, H. (2013). Evaluation of analgesic and anti-inflammatory effect of nanoparticles of magnesium oxide in mice with and without ketamine. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 17: 2706-2710.
- Joshi, H. and Parle, M. (2007). Pharmacological evidences for anti-amnesic potentials of *Phyllanthus amarus* in mice. *African Journal of Biomedical Research*, 5(2): 165-173.
- Kahveci, N.; Gulec, G. and Ozluk, K. (2006). Effect of interacerebro ventricularly-injected morphine on anxiety, memory retrieval and locomotor activity in rat: involvement of vasopressinergic system and nitric oxide pathway. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 85(3): 859-867.
- Li, W.; Yu, Y.; Huang, X.; Abumaria, N.; Zhu, Y.; Huang, X. et al. (2013). Elevation of brain magnesium prevents and reverse cognitive deficits and synaptic loss in Alzheimer's disease. *The Journal of Neuroscience*, 33(19): 8423-8441.
- Li, Z.; Wu, C.F.; Pei, G. and XU, N.J. (2001). Reversal of morphine-induced memory impairment in mice by withdrawal in Morris water maze: possible involvement of cholinergic system. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 68: 507-513.
- Liu, G. (2012). Prevention of cognitive deficits in Alzheimer mouse model by elevating brain

- magnesium. International Conference on Molecular Neurodegeneration, 7(2): 1-24.
- Narwal, S.; Saini, D.R.; Kumari, K.; Narwal, S.; Singh, G.; Singh Negi, R. et al. (2012). Behavior & Pharmacological animal models for the evaluation of learning & memory condition. Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences, 2(2): 121-129.
- Prasad, G.L. (2009). Biochemical application of nanoparticles. Nanostructure Science and Technology, 71(3): 89-109.
- Reisinger, C.; Yelamanchili, S.V.; Hinz, B.; Mitter, D.; Becher, A.; Bigalke, H. et al. (2004). The synaptophysin/synaptobrevin complex dissociates independently of neuroexocytosis. Journal Neurochemistry, 90 (1): 1-8.
- Rezayof, A.; Nazari-Serenjeh, F.; Zarrindast, M.H.; Sepehri, H. and Delphi, L. (2007). Morphine-induced place preference: Involvement of cholinergic receptors of the ventral tegmental area. European Journal of Pharmacology, 562(3): 92-102.
- Rolls, E.T. (2010). A computational theory of episodic memory formation in the hippocampus. Behavioural Brain Research, 21(5): 180-196.
- Slutsky, I.; Abumaria, N.; Wu, L.J.; Huang, C.; Zhang, L.; Li, B. et al. (2010). enhancement of learning and memory by elevating brain magnesium. Neuron, 65(2): 165-177.
- Thomas, M.J.; Moody, T.D.; Makhinson, M. and O'Dell, T.J. (1996). Activity-dependent beta-adren modulation of low frequency stimulation induced LTP in the hippocampal CA1 region. Neuron, 17(3): 475-482.
- Trigoa, J.M.; Martin-Garciaa, E.; Berrenderoa, F.; Robledo, B. and Maldonado, R. (2010). The endogenous opioid system: a common substrate in drug addiction. Drug and Alcohol Dependence, 108(1): 183-194.
- Van der Jeugd, A.; Ahmed, T.; Burnouf, S.; Belarbi, K.; Hamdame, M.; Grosjean, M.E. et al. (2011). Hippocampal tauopathy in tau transgenic mice coincides with impaired hippocampus-dependent learning and memory, and attenuated late-phase long-term depression of synaptic transmission. Neurobiology of Learning and Memory, 95(1): 296-304.
- Williams, J.T.; Christie, M.J. and Manzoni, O. (2001). Cellular and synaptic adaptations mediating opioid dependence. Physiology Review, 81(6): 299 -343.
- Zarrindast, M.R.; Jafari, M.R.; Ahmadi, S. and Djahanguiri, B. (2004). Influence of central administration ATP- dependent K⁺ channel on morphine state- dependent memory of passive avoidance. European Journal of Pharmacology, 487(2): 143-148.
- Zhu, F.; Yan, C.X.; Zhao, Y.; Li, P.P. and Li, S.B. (2011). Effects of pre-training morphine on spatial memory acquisition and retrieval in mice, Physiology and Behavior, 104: 754-760.

The preventative role of MgO nanoparticles in amnesia induced by morphine in mouse

Abdolahzadeh Dashty, M.¹; Kesmati, M.²; Khaje Por, L.³ and Najafzadeh Varzi, H.⁴

Received: 05.10.2013

Accepted: 08.04.2014

Abstract

Consumption of opioid agonists such as morphine before and after training distract the memory. It has been shown that some magnesium supplements improve various forms of memory but influx limitation of the ion via the blood brain barrier has limited its use. Mineral nano particles such as magnesium oxide nano particles (nano MgO) with unique physiochemical properties, can easily pass across biological barriers but their effects on memory and amnesia are not clear. In this study effect of magnesium oxide nanoparticles on morphine induced amnesia has been investigated. In this study, the mice in the weight range 25 to 30g were used in 12 groups consisted: control, receiving morphine (5 and 10 mg/kg), receiving nano MgO (1, 2.5, 5, 10 mg/kg, IP) and interaction groups of morphine and nano MgO. The Step-down apparatus was used for evaluating the passive avoidance memory. The results showed that morphine administration after training in dose of 5 mg/kg made significant amnesia. MgO nanoparticles in doses of 2.5, 5, 10mg/kg after training improved passive avoidance memory but had no effect on locomotor activity. However, mgo in these doses inhibited morphine induced amnesia. It seems that MgO nanoparticles prevent the mechanisms of morphine induced amnesia by passing through blood brain barrier and involving in memory pathways.

Key words: Magnesium oxide nanoparticle, Morphine, Memory, Mouse

1- MSc. Graduated of physiology, Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran

2- Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran

3- Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran

4- Professor, Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran

Corresponding Author: Kesmati, M., E-mail: m.kesmati@scu.ac.ir