



بررسی اثر تزریق آگونیسست گیرنده D2 در هسته آکومبسنس بر برگشت فراموشی القاء شده با مورفین

توسط نیکوتین در رت های نر

روناک عزیز بیگی^۱، مریم السادات شاهین^۲ و مرتضی پیری^{۳*}

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد سنندج، دانشکده دامپزشکی، گروه فیزیولوژی، سنندج، ایران

۲- عضو باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرری، گروه زیست شناسی، شهرری، ایران

۳- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اردبیل، گروه زیست شناسی، اردبیل، ایران

مسئول مکاتبات: biopiri@iauardabil.ac.ir

چکیده

مطالعات، تأثیر مورفین و نیکوتین را بر روی انواع مختلف حافظه و یادگیری آشکار نموده است. این داروها بیشتر اثرات خود را از طریق مسیر دوپامینرژیک مزولیمبیک ایجاد می نمایند. هدف مطالعه حاضر بررسی اثر تزریق آگونیسست گیرنده D2 دوپامینی (سولپیراید) به هسته آکومبسنس بر روی اثر نیکوتین روی فراموشی القاء شده با مورفین می باشد. این مطالعه تجربی بر روی ۱۸۵ موش صحرایی نر انجام شد. موش ها با تزریق درون صفاقی کتامین هیدروکلراید، بعلاوه زایلزین بی هوش شدند و سپس در دستگاه استریوتاکسی قرار داده شدند. دو کانول در پوسته هسته آکومبسنس قرار داده شد. آزمون رفتاری با استفاده از دستگاه یادگیری احترازی غیر فعال آغاز شد و میزان تأخیر حیوان در ورود به بخش سیاه به عنوان معیار حافظه اندازه گیری شد. فراموشی القاء شده با مورفین پس از آموزش با تزریق قبل از آزمون مورفین، نیکوتین یا نیکوتین همراه با دوز بی اثر مورفین اصلاح می گردد. تزریق قبل از آزمون آگونیسست گیرنده D2 دوپامینی (سولپیراید) به داخل هسته آکومبسنس که به تنهایی تأثیری بر حافظه ندارد، از بازگشت حافظه تخریب شده با مورفین توسط نیکوتین جلوگیری می نماید. این یافته ها نشان می دهند که گیرنده های دوپامینی D2 هسته آکومبسنس، نقش مهمی در اثرات بهبود بخش نیکوتین بر روی فراموشی القاء شده با مورفین دارند.

کلمات کلیدی: مورفین، نیکوتین، گیرنده های دوپامینی D2، هسته آکومبسنس، حافظه اجتنابی مهارى

مقدمه

های D2 دوپامینی، تأثیرگذاری بیشتر نیز می باشد چرا که تزریق آنتاگونیسست گیرنده های D2 دوپامینی به بخش قشری یا مرکزی هسته آکومبسنس بلافاصله بعد از آموزش باعث تخریب حافظه اجتنابی مهارى می گردد [۹]. این تجربیات شاید نشان دهنده اهمیت بیشتر گیرنده های دوپامینی D2 در هسته آکومبسنس، در فرآیند حافظه باشد. از طرف دیگر مورفین و نیکوتین جزء داروهایی می باشند که هر دو مورد سوء مصرف قرار می گیرند و یکی از اصلی ترین ویژگی های مشترک این دو ماده فعال کردن سیستم دوپامینی مزولیمبیک و افزایش رهایش دوپامین در نواحی هدف ناحیه تگمتموم شکمی از جمله هسته آکومبسنس می شود [۱۴، ۱۸، ۲۱]. مطالعات انجام شده به روش میکرودیالیز در حیوانات آزمایشگاهی تأثیر تزریق

شکل گیری حافظه یک فرآیند پیچیده می باشد که در آن مراکز مغزی مختلف و میانجی های عصبی مختلف دخیل می باشند [۶]. شواهد موجود نشان می دهد که هسته آکومبسنس یکی از مراکز عصبی مهم و دوپامین یکی از ناقل های عصبی مهم دخیل در فرآیند حافظه و بویژه حافظه اجتنابی مهارى می باشند [۴، ۸، ۱۰]. به عنوان نمونه در موش های کوچک آزمایشگاهی تزریق آنتاگونیسست گیرنده های D1 دوپامینی بلافاصله بعد از آموزش به بخش مرکزی هسته آکومبسنس باعث تخریب حافظه اجتنابی مهارى می گردد ولی تزریق آن دو ساعت بعد از آموزش اثر تخریبی بر روی حافظه ندارد، همچنین تزریق این آنتاگونیسست به بخش قشری هسته آکومبسنس اثر تخریبی در پی ندارد [۹]. در مورد آنتاگونیسست گیرنده



روز آموزش و آزمون این شرایط یکسان را ایجاد می نماید [۱۶، ۱۹، ۲۳]. یکی از نکات جالبی که در مطالعات اخیر ما مشخص شده است این نکته می باشد که تزریق نیکوتین به مانند خود مورفین در روز آزمون قادر به بهبود حافظه تخریب شده با مورفین روز آموزش می باشد [۱، ۲، ۲۰، ۲۵]. با توجه به این که نیکوتین به مانند مورفین رهایش دوپامین در هسته آکومبسن را افزایش می دهد و این دو ماده شرایط یکسانی را در هسته آکومبسن در روز آموزش و آزمون ایجاد می نمایند، می توان گفت که عملاً نیکوتین در روز آزمون کار مورفین را در افزایش رهایش دوپامین تقلید می نماید. اگر این فرضیه درست باشد قاعدتاً تزریق آنتاگونیست های گیرنده های دوپامینی به هسته آکومبسن قبل از تزریق نیکوتین در روز آزمون باید جلوی برگشت حافظه با نیکوتین روز آزمون را بگیرد. ما در مطالعات پیشین همپنین نشان داده ایم که گلوتامات و نیتریک اکساید در میانجی گری اثرات نیکوتین در برگشت حافظه دخیل می باشد [۱، ۲، ۲۰، ۲۵]. البته فرضیه ما در این مطالعات هم این بوده است که سیستم نیتریک اکساید و گلوتاماتی احتمالاً به واسطه اثر گذاری بر روی سیستم دوپامینی مزولیمبیک اثر خود را در میانجی گری اثرات نیکوتین اعمال می نماید. بنابراین این مطالعه علاوه بر اینکه می تواند نقش سیستم دوپامینی را در میانجی گری اثرات نیکوتین بر حافظه نشان دهد می تواند به طور ضمنی درستی فرضیه مطرح شده در مطالعات پیشین را نیز نشان دهد، لذا در این مطالعه با استفاده از آنتاگونیست اختصاصی گیرنده های D2 دوپامینی اهمیت این گیرنده ها در هسته آکومبسن در میانجی گری اثرات نیکوتین مورد بررسی قرار می گیرد.

مواد و روش کار

در این مطالعه تجربی که در پژوهشکده علوم شناختی (تهران - ایران) انجام گرفت، از ۱۸۵ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار به وزن تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ گرم که از انستیتو پاستور ایران تهیه شدند استفاده گردید. حیوان ها به

مورفین و نیکوتین به صورت سیستمیک بر روی سطح دوپامین خارج سلولی در هسته آکومبسن را به طور مستقیم نشان داده است [۱۲، ۲۰، ۲۵]. مورفین و نیکوتین علاوه بر اثر بر روی سیستم دوپامینی مزولیمبیک هر دو روی فرآیند حافظه و یادگیری در مدل یادگیری اجتنابی مهاری تأثیرگذار می باشند [۱، ۲، ۲۵]. اثرات مشترک آنها بر روی حافظه پیشنهاد کننده این موضوع می باشد که شاید سیستم دوپامینی در میانجی گری اثرات مورفین و نیکوتین بر روی حافظه دخیل باشد. مطالعات متعدد نشان دهنده این موضوع می باشد مورفین و سایر اپیوئیدها اگر قبل یا بعد از آموزش و حتی قبل از آزمون به حیوانات آزمایشگاهی تزریق شوند باعث تخریب حافظه اجتنابی مهاری می گردند [۲۰، ۲۵]. شواهد موجود همچنین نشان می دهد که اگر مورفین هم در روز آموزش (چه قبل و چه بعد از آموزش) و هم در روز آزمون تزریق گردد، حافظه تخریب شده با مورفین روز آموزش اصلاح می گردد [۲۰، ۲۵]. این پدیده یادگیری وابسته به وضعیت می باشد که علاوه بر مورفین موادی نظیر اتانول و کانابینوئیدها نیز قادر به ایجاد آن می باشند، نکته جالب که به نوعی می تواند نشان دهنده اهمیت سیستم دوپامینی در فرآیند یادگیری وابسته به وضعیت نیز باشد این است که اتانول و کانابینوئیدها هم به مانند مورفین قادر به افزایش رهایش دوپامین در هسته آکومبسن می باشند [۱۱، ۱۳، ۱۶، ۱۹، ۲۳]. با وجود اینکه پدیده یادگیری وابسته به وضعیت در مطالعات متعدد به صورت تجربی نشان داده شده و حتی تأثیر گذاری بعضی از ناقله های عصبی بر روی یادگیری وابسته به وضعیت ایجاد شده با اتانول، مورفین و کانابینوئیدها مورد بررسی قرار گرفته است ولی هنوز مکانیزم واقعی دخیل در این فرآیند به خوبی مشخص نشده است، آنچه مسلم است وقتی حیوان از لحاظ حسی و فیزیولوژیک در همان شرایطی قرار گیرد که در هنگام کد بندی اطلاعات در آن شرایط قرار داشته است، به یادآوری اطلاعات کسب شده تسهیل می گردد و تزریق یک دارو نظیر مورفین، اتانول و کانابینوئیدها در



سولپیراید ابتدا در یک قطره اسید استیک گلاسیال حل گردید و سپس حجم آن به ۵ میلی لیتر رسانده شد. روش جراحی و کانول گذاری در ناحیه هسته آکومینس: موش های صحرائی توسط تزریق کتامین هیدروکلراید (۵۰ mg/kg) به علاوه زیلین (۴ mg/kg) بی هوش شدند. بعد از بی هوشی حیوانات در دستگاه استریوتاکسی قرار داده شدند. دو کانول راهنمای (۲۲ G) به صورت دو طرفه دو میلی متر بالاتر از محل تزریق بر اساس اطلس پاکسینوس و واتسون (۱۹۹۷) قرار داده می شود. مختصات هسته آکومینس برابر (AP = +۱، ±۱، ML = -۷/۳، V = -) می باشد. بعد از قرار دادن کانول ها در مختصات مورد نظر با استفاده از سیمان دندان پزشکی کانول های راهنما در جای خود محکم می شوند. برای جلوگیری از بسته شدن کانول های راهنما در طی آزمایش در داخل کانولهای راهنما کانول های (۲۷ G) قرار داده می شود. پس از جراحی و قبل از تزریق درون مغزی دارو به حیوان اجازه داده می شود ۵ تا ۷ روز دوره بهبودی پس از جراحی را به منظور رفع استرس و تخریب بافتی احتمالی توسط جراحی سپری کرده به حالت عادی خود برگردد.

آزمون های رفتاری: روش اجتنابی مهارتی برای بررسی حافظه در موشهای صحرائی در دو روز متوالی هم انجام می شود. روز اول یا روز آموزش شامل آموزش دادن حیوان ها در دستگاه بوده، روز دوم یا روز آزمون میزان حافظه حیوان های آموزش دیده بررسی می شود.

مرحله آموزش: در روش اجتنابی مهارتی مدل Step-through، هر حیوان به آرامی در بخش روشن دستگاه قرار می گیرد، به مدت ۵ ثانیه به آن اجازه داده می شود به منظور آشنایی با محیط در این قسمت بماند. پس از گذشت ۵ ثانیه درب کشویی باز شده، به حیوان اجازه داده می شود از این قسمت وارد قسمت سیاه دستگاه شود بلافاصله بعد از ورود حیوان به خانه سیاه درب کشویی بسته شده و حیوان از دستگاه خارج شده و به آرامی به

حیوانخانه تحقیقاتی منتقل شده، در هر قفس ۵ سر موش قرار داده شد. در طول آزمایش ها آب و غذای کافی در اختیار موش ها قرار می گرفت و هر سه روز یکبار قفس موش ها تمیز می شد. دمای در حیوانخانه بین 3 ± 22 درجه سانتی گراد متغیر بود. قبل از جراحی به مدت یک هفته به موش ها اجازه داده شد که خود را با شرایط حیوانخانه تطبیق دهند. در طول یک هفته به منظور جلوگیری از تنش کار، هر روز حیوان روزانه به مدت ۵ دقیقه با دست لمس می شد. هر حیوان فقط یک بار استفاده شده و در گروه هشت تایی قرار داده می شد. همه آزمایش ها در طول روز انجام می شد.

دستگاه یادگیری اجتنابی مهارتی (غیر فعال)، مدل Step-Through، از جعبه ای تشکیل شده که به وسیله دیواره ای به دو قسمت با اندازه یکسان (با ابعاد $20 \times 20 \times 30$ سانتی متر) تقسیم می شود. درون دیواره بین دو قسمت درب کشویی به ابعاد 9×7 سانتی متر تعبیه شده است که می توان در موقع لزوم آن را باز کرد. این دستگاه دارای بخش سفید رنگی می باشد که کف و دیواره های آن از جنس پلکسی گلاس غیرشفاف ساخته شده، فاقد هر گونه سقف بوده و توسط نور غیرمستقیم فلورسنت آفتابی روشن می شود. بخش دیگر دستگاه سیاه رنگ است در کف دارای میله های فولادی با فاصله یک سانتی متر بوده، که این میله ها توسط سیم رابطی به دستگاه تحریک کننده متصل می شوند و به این طریق عمل انتقال شوک الکتریکی به حیوانات مورد آزمایش را ممکن می سازند. باید آزمایش در اتاق باید نسبتاً تاریک و بدون سر و صدا انجام شود.

داروها: داروهای مورد استفاده در این تحقیق عبارت بودند از مورفین، نیکوتین و سولپیراید. داروهای مورفین و نیکوتین بلافاصله قبل از آزمایش ها در سرم فیزیولوژیک استریل ۰/۹ درصد استریل حل گردیدند و PH نیکوتین بعد از حل شدن در سرم فیزیولوژیک ۰/۹ درصد توسط سود ۰/۱ نرمال به محدوده ۷/۴ رسید.

در ورود به بخش تاریک دستگاه به عنوان معیاری برای بررسی میزان حافظه در نظر گرفته می‌شود. بیشترین مقدار تأخیر برای ورود به بخش تاریک که به عنوان حافظه کامل شناخته می‌شود ۳۰۰ ثانیه در نظر گرفته می‌شود.

تزریق درون مغزی دارو: برای تزریق دارو از کانول (G ۲۷) دندانپزشکی به طول ۱۵ میلی‌متر، (دو میلی‌متر بزرگ تر از کانول راهنما) به منظور دسترسی دقیق به هسته آکومبسن و جلوگیری از آسیب آن استفاده شد. این سر سوزن به کت دان تیوپ نوزاد (شماره ۴) متصل می‌باشد. برای تزریق از سرنگ هاملتون ۲ میکرولیتر استفاده شد. در مرحله تزریق پس از برداشتن سیم داخل کانول راهنما، سر سوزن ۲۷G دندانپزشکی در داخل کانول راهنما G ۲۲ قرار داده شده، در هر کانول ۰/۳ میکرولیتر دارو در مدت ۶۰-۹۰ ثانیه تزریق شد. این زمان به منظور کسب اطمینان از ورود دارو به مغز و جلوگیری از خروج آن از کانول راهنما در نظر گرفته می‌شود. مجموع حجم تزریق درون مغزی به هر موش ۰/۶ میکرولیتر است. در طول تزریق به حیوان اجازه داده می‌شود بدون هیچ دسترسی آزادانه حرکت کند.

بافت شناسی: پس از کشتن حیوان‌ها توسط کلروفرم با تزریق رنگ متیلن بلو ۱٪ (۰/۳ μl) به درون هر دو کانول، مغز از درون جمجمه بیرون آورده شده، به منظور جلوگیری از سفت شدن بافت‌ها درون فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت. پس از یک هفته با استفاده از تیغ جراحی در محل ورود کانول به درون مغز برش‌هایی داده شده، محل ورود کانول به مغز به وسیله میکروسکوپ لوپ مورد مطالعه قرار گرفت. جهت مطالعه مقاطع بافتی تهیه شده، از اطلس پاکسینوس و واتسون استفاده می‌شد. پس از کسب اطمینان از محل قرارگیری کانول‌ها در نواحی مورد نظر اطلاعات حاصل از حیوان مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری: در همه آزمایش‌های توضیح داده شده میزان تأخیر ورود حیوان به خانه سیاه در روز آزمون

قفس برگردانده می‌شود. موش‌هایی که در این مرحله بیشتر از ۱۲۰ ثانیه در ورود به بخش تاریک تأخیر داشته باشند از ادامه آزمایش حذف می‌شدند. پس از گذشت ۳۰ دقیقه این حیوان دوباره به بخش سفید دستگاه منتقل شده و بعد از ۵ ثانیه درب کشویی باز می‌شد تا حیوان وارد بخش تاریک شود. با ورود حیوان به بخش تاریک، درب کشویی پشت سر حیوان بسته شده، حیوان تحریک الکتریکی با شدت یک میلی‌آمپر و به مدت ۳ ثانیه، که توسط دستگاه تحریک کننده به میله‌های فولادی کف بخش تاریک منتقل می‌شود، را دریافت می‌کرد. ۲۰ ثانیه پس از پایان تحریک حیوان از دستگاه خارج شده، به قفس مربوطه منتقل می‌شود. پس از گذشت ۲ دقیقه مرحله دوم آموزش روی حیوان شوک گرفته انجام شده در این مرحله نیز موش مانند دفعات قبل به خانه سفید دستگاه منتقل شده و درب کشویی باز شده و میزان تأخیر ورودش به بخش تاریک دستگاه ثبت می‌گردد. تأخیر ۱۲۰ ثانیه‌ای در ورود به بخش سیاه دستگاه که به عنوان یادگیری موفق برای حیوان ثبت می‌گردد، حیوان از دستگاه خارج شده، بلافاصله تزریق پس از آموزش را دریافت می‌کند. در صورت تأخیر کمتر از ۱۲۰ ثانیه در ورود به بخش تاریک پس از ورود درب کشویی دستگاه بسته پشت سرش بسته شده، حیوان برای بار دوم شوک دریافت می‌کند. پس از خارج کردن حیوان از دستگاه و سپری شدن ۲ دقیقه حافظه حیوان همانند دوره قبل دوباره مورد امتحان قرار می‌گیرد. در صورت کسب یادگیری موفق حیوان از دستگاه خارج شده، تزریق بعد از آموزش را دریافت می‌کند. حداکثر آموزش برای هر موش سه بار در نظر گرفته شد.

مرحله آزمون یا بررسی حافظه: در جلسه آزمون که ۲۴ ساعت پس از مرحله آموزش انجام می‌شود در جلسه آزمون تحریک الکتریکی اعمال نمی‌شود. برای بررسی حافظه، هر موش پس از دریافت تزریق قبل از آزمون، همانند روز اول، در بخش روشن دستگاه قرار گرفته، درب کشویی بعد از ۵ ثانیه باز شده، زمان تأخیر حیوان

صورت درون مغزی در داخل هسته آکومبیس دریافت داشتند.

نتایج

مقطع بافتی مربوط به پوسته هسته آکومبیس که نشان دهنده محل قرار گیری صحیح کانول در مقایسه با شکل شماتیک برگرفته از اطلس پاکسینوس می باشد. لازم به ذکر است که تنها داده های مربوط به حیواناتی که محل جراحی آنها در مقایسه با اطلس پاکسینوس صحیح بود، در آنالیز آماری مورد استفاده قرار گرفت (شکل ۱).

آزمایش اول - اثر مورفین و نیکوتین بر حافظه تخریب شده با مورفین

آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون مکمل توکی نشان داد، تزریق مورفین (۵، ۷/۵ میلی گرم برکیلوگرم) قبل از آزمون قادر به بهبود معنی دار حافظه تخریب شده با مورفین روز آموزش می باشد [$F(3, 28) = 19/43, p < 0/001$]. تزریق نیکوتین (۰/۴ میلی گرم برکیلوگرم) نیز به مانند مورفین در روز آزمون به موش هایی که در روز آموزش تحت تأثیر مورفین قرار داشتند باعث اصلاح حافظه تخریب شده با مورفین روز آموزش می شود [$F(3, 28) = 17/31, p < 0/001$]. همچنین نتایج ما مشخص نمود که تزریق مقدار غیر مؤثر مورفین به همراه نیکوتین در روز آزمون باعث تقویت اثر بهبود بخش نیکوتین بر حافظه می شود، به گونه ای که در این حالت مقادیر (۰/۲، ۰/۴ میلی گرم برکیلوگرم) می توانند به طور معنی دار حافظه را اصلاح نمایند [$F(3, 28) = 25/78, p < 0/001$].

آزمایش دوم - نتایج تزریق درون مغزی سولپیراید قبل از آزمون بر روی یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با مورفین

تحلیل واریانس یک طرفه مشخص نمود که تزریق سولپیراید (۰، ۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵ میکروگرم برموش) قبل از آزمون به حیواناتی که در روز آموزش سالیین دریافت کرده اند، اثری بر روی حافظه اجتنابی مهاری ندارد [$p > 0/05$]

به عنوان ملاک حافظه در نظر گرفته شده، نمره هر گروه به صورت میانگین و انحراف معیار استاندارد ($Mean \pm S.E.M$) ثبت می گردید. هم چنین تعداد آموزش هر حیوان نیز در روز آموزش نیز ثبت گردید. به منظور تعیین وجود اختلاف معنا دار بین گروه های آزمایش، از روش تحلیل واریانس یکطرفه و آزمون توکی استفاده گردید. اختلاف در سطح $P < 0.05$ به عنوان تفاوت معنا دار در نظر گرفته شد. برای انجام محاسبات آماری از نرم افزار SPSS و رسم نمودارها از نرم افزار Sigma Plot استفاده شد.

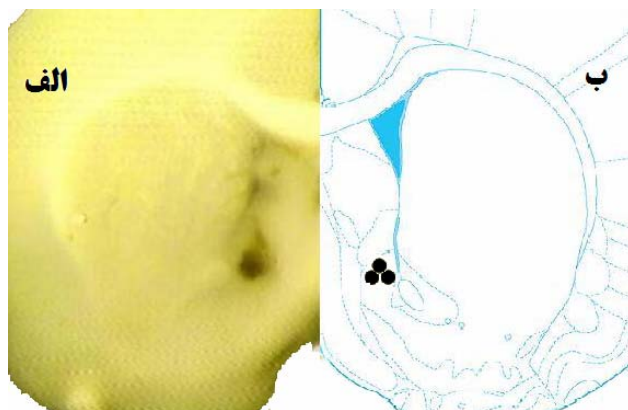
تیمارهای دارویی و آزمایشهای انجام شده

آزمایش اول - بررسی اثر مورفین و نیکوتین بر حافظه تخریب شده با مورفین: در این آزمایش دوازده گروه حیوان بکار رفت، تمامی گروه ها بلافاصله بعد از آموزش مورفین (۷/۵ میلی گرم برکیلوگرم) دریافت کردند. در روز آزمون چهار گروه اول مقادیر مختلف مورفین (۰، ۲/۵، ۵، ۷/۵ میلی گرم بر کیلوگرم)، چهار گروه دوم مقادیر مختلف نیکوتین (۰، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴ میلی گرم برکیلوگرم) و چهار گروه باقیمانده مقادیر مختلف مورفین (۰، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴ میلی گرم برکیلوگرم) را همراه با دوز غیرمؤثر مورفین (۲/۵ میلی گرم برکیلوگرم) دریافت داشتند.

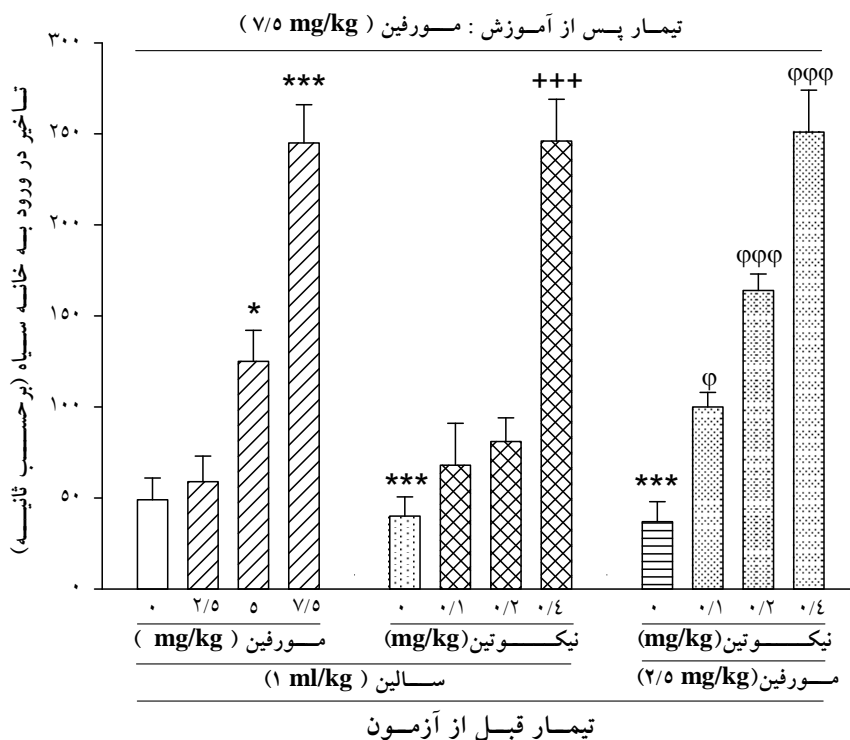
آزمایش دوم - بررسی اثر سولپیراید بر روی حافظه: در این آزمایش هشت گروه حیوان بکار برده شد، چهار گروه اول در روز آموزش بلافاصله بعد از آموزش سالیین را به صورت درون صفاقی دریافت کردند و در روز آزمون مقادیر مختلف سولپیراید (۰، ۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵ میکروگرم برموش) را به صورت درون مغزی در داخل هسته آکومبیس دریافت داشتند. چهار گروه باقیمانده در روز آموزش مورفین (۷/۵ میلی گرم برکیلوگرم) را به صورت درون صفاقی دریافت کردند، در روز آزمون این چهار گروه ۳۰ دقیقه قبل از تست نیکوتین (۰/۴ میلی گرم برکیلوگرم) و ۵ دقیقه قبل از تست مقادیر مختلف سولپیراید (۰، ۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵ میکروگرم برموش) را به

داری جلوی اثر اصلاحی نیکوتین بر روی حافظه تخریب شده با مورفین روز آموزش را می‌گیرد [$p < 0.001$]
 $[F(3, 28) = 223.52]$.

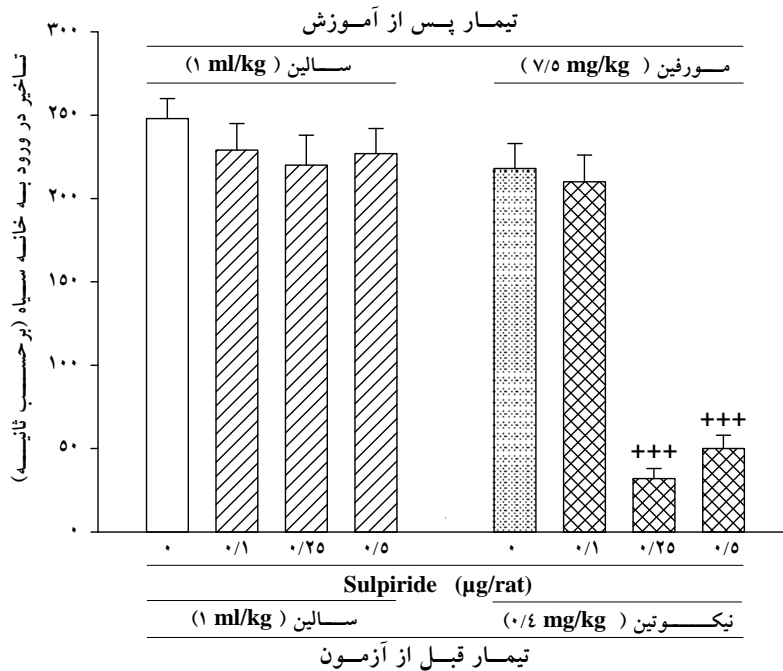
، $[F(3, 28) = 1.91]$. اما تزریق همین مقادیر غیر مؤثر سولپیراید (۰/۲۵، ۰/۵، میکرو گرم بر موش) به همراه دوز مؤثر نیکوتین (۰/۴ میلی گرم بر کیلوگرم) به صورت معنی



شکل ۱- عکس مقطع بافتی مربوط به کانول گذاری در پوسته هسته آکومبنس (الف) و شکل شماتیک برگرفته از اطلس پاکسینوس که محل پوسته هسته آکومبنس در آن مشخص شده است (ب)



شکل ۲- اثر نیکوتین و مورفین بر حافظه اجتنابی تخریب شده با مورفین. $P < 0.001$ *** در مقایسه با گروه سالیین / سالیین، $P < 0.05$ +، $P < 0.001$ +++ در مقایسه با مورفین / سالیین و $P < 0.05$ φ، $P < 0.001$ φφφ در مقایسه با مورفین / مورفین می باشد.



شکل ۴- اثر سولپیراید بر حافظه اجتنابی مهاری و میانجی‌گری اثر بهبود بخش نیکوتین بر فراموشی القاء شده با مورفین. $P < 0.05$ +، $P < 0.001$ +++ در مقایسه با مورفین / نیکوتین می‌باشد.

بحث

تقلید اثر مورفین می‌باشد. نتایج ما با نتایج مطالعات پیشین که نشان می‌دهد تزریق قبل از آزمون نیکوتین به صورت سیستمیک یا درون مغزی باعث بهبود حافظه تخریب شده با مورفین می‌شود هماهنگ می‌باشد [۱، ۲، ۲۰، ۲۵]. جالب تر اینکه تزریق مقادیر غیر مؤثر نیکوتین به همراه مقدار غیر مؤثر مورفین که هیچ کدام به تنهایی در روز آزمون قادر به اصلاح حافظه تخریب شده با مورفین نمی‌باشند، به صورت سینرژیک باعث بازگشت حافظه در روز آزمون می‌شوند. با توجه به اینکه اصلی‌ترین ویژگی مشترک مورفین و نیکوتین فعال شدن مسیر دوپامینی مزولیمبیک می‌باشد [۱۲]. این احتمال مطرح می‌گردد که

همسو با مطالعات پیشین نتایج این تحقیق نیز نشان می‌دهد که تزریق پس از آموزش مورفین باعث تخریب حافظه اجتنابی مهاری می‌شود. همچنین نتایج ما نشان می‌دهد که تزریق پیش از آزمون مورفین به حیواناتی که در روز آموزش نیز مورفین دریافت کرده‌اند باعث بهبود حافظه می‌شود، این پدیده یادگیری وابسته به وضعیت می‌باشد که مکانیسم دقیق آن تا کنون شناخته نشده است [۱۹، ۲۰، ۲۵]. نتایج این تحقیق همچنین نشان می‌دهد که تزریق نیکوتین در روز آزمون به مانند مورفین روز آزمون باعث بهبود حافظه تخریب شده با مورفین می‌شود، به عبارت دیگر گویی نیکوتین در روز آزمون قادر به

نیکوتین به مانند مورفین بواسطه تأثیرگذاری بر سیستم دوپامینی روی حافظه تأثیر گذاشت باشد. همچنین با در نظر داشتن این نکته که دوپامین یکی از میانجی‌های عصبی مهمی است که حافظه اجتنابی مهاری را تحت تأثیر قرار می‌دهد [۴، ۱۵]، این احتمال تقویت می‌گردد. تأثیر گذاری نیکوتین و مورفین بر روی افزایش رهایش دوپامین امری مسلم و اثبات شده می باشد. مطالعات انجام شده به روش میکرودیالیز نشان می‌دهند که تزریق سیستمیک نیکوتین سطح دوپامین خارج سلولی را در هسته آکومبنس افزایش می‌دهد، که این افزایش دوپامین بویژه در بخش قشری هسته آکومبنس رخ می‌دهد [۲۲]. تزریق موضعی نیکوتین به داخل VTA یا هسته آکومبنس نیز، آزادسازی دوپامین در هسته آکومبنس را افزایش می‌دهد [۵]. افزایش رهایش دوپامین در هسته آکومبنس بدنال تزریق موضعی نیکوتین، بطور عمده ناشی از تحریک مستقیم گیرنده‌های نیکوتینی بر روی پایانه‌های دوپامینرژیک می‌باشد، اگرچه القای آزاد سازی گلوتامات توسط نیکوتین و فعال شدن گیرنده‌های NMDA و تولید نیتریک اکساید نیز می‌تواند در این فرآیند دخیل باشند [۱۷].

نتایج مطالعات پیشین همچنین نشان دهنده اهمیت سیستم دوپامینی بویژه گیرنده‌های دوپامینی D2 در فرآیند حافظه و تداخل آن با اثرات مورفین بر روی حافظه می‌باشد. به عنوان نمونه مطالعات قبلی نشان می‌دهند که فراموشی القاء شده با تزریق پیش از آموزش مورفین با تزریق سیستمیک آنتاگونیست گیرنده‌های دوپامینی D2 تشدید می‌گردد [۲۶]. بعلاوه حافظه تخریب شده توسط تزریق پس از آموزش مورفین در مدل یادگیری اجتنابی مهاری توسط آگونیست گیرنده‌های دوپامینی D2 بلوک می‌گردد [۳]. همچنین گزارش شده است که پیش تیمار طولانی با مورفین به واسطه اثر بر سیستم دوپامینی جلوی تخریب حافظه توسط تزریق پس از آموزش مورفین را می‌گیرد [۲۴]. با وجود تمامی شواهد فوق این فرضیه که گیرنده‌های دوپامینی D2 اثرات نیکوتین بر روی حافظه

تخریب شده با مورفین را میانجی‌گری می‌نمایند، بطور مستقیم مورد مطالعه قرار نگرفته است. تنها راه اثبات قطعی این موضوع تزریق آنتاگونیست اختصاصی D2 به داخل هسته آکومبنس بعد از تزریق نیکوتین به صورت سیستمیک می‌باشد. در ضمن برای اینکه این اثر آنتاگونیست دوپامین یک اثر کلی بر روی حافظه تلقی نگردد، می‌بایست دوزهایی از این آنتاگونیست دوپامین مورد استفاده قرار گیرد که به تنهایی اثری بر روی حافظه اجتنابی مهاری ندارند. به این منظور از سولپیراید استفاده گردید و نتایج بدست آمده در این مطالعه نشان داد که تزریق سولپیراید به هسته آکومبنس جلوی برگشت حافظه توسط نیکوتین روز آزمون را می‌گیرد. این نتیجه همسو با مطالعات پیشین و تأیید کننده این موضوع می‌باشد که اثر بهبود بخش نیکوتین بر روی حافظه اجتنابی تخریب شده توسط مورفین تا حدودی از طریق گیرنده‌های دوپامینی D2 در هسته آکومبنس میانجی‌گری می‌شود. هر چند باید توجه داشت که فرآیند ها دخیل در حافظه فرآیندهایی بسیار پیچیده می باشند که در آن نواحی مختلف مغزی و ناقل ها عصبی مختلف می توانند به طور همزمان دخیل و درگیر باشند [۷]، بنابراین می‌بایست اثر سایر ناقل های عصبی و سایر نواحی دستگاه لیمبیک بر این پدیده را مورد بررسی قرار داد.

منابع

1. Ahmadi S, Zarrindast MR, Haeri-Rohani A, Rezayof A, Nouri M. (2007), Nicotine improves morphine-induced impairment of memory: possible involvement of N-methyl-D-aspartate receptors in the nucleus accumbens. *Dev Neurobiol*, 67(8): 1118-27.
2. Ahmadi S, Zarrindast MR, Nouri M, Haeri-Rohani A, Rezayof A. (2007), N-Methyl-D-aspartate receptors in the ventral tegmental area are involved in retrieval of inhibitory avoidance memory by nicotine. *Neurobiol Learn Mem*, 88(3): 352-8.



the rat: a meta-analysis based on studies of four behavioral tasks. *Brain Res Brain Res Rev*, 41(2-3): 268-87.

13. Nasehi M, Piri M, Jamali-Raeufy N, Zarrindast MR. (2010), 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*, 100(4): 297-304.

14. Nasehi M, Piri M, Mafi F, Oryan S, Nasri S, Shahin M. (2011), Role of interaction between Nicotine and dopaminergic D2 receptors of dorsal hippocampus on anxiety behavior. *Kowsar Medical Journal*, 16(1): 15-20 (Persian).

15. Nasehi M, Piri M, Nouri M, Farzin D, Nayer-Nouri T, Zarrindast MR. (2010), Involvement of dopamine D1/D2 receptors on harmaline-induced amnesia in the step-down passive avoidance test. *Eur J Pharmacol*, 634(1-3): 77-83.

16. Navaeian M, Piri M, Pakpour B. (2011), Influence of WIN55, 212-2 on morphine state-dependent memory in the step-down passive avoidance test. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences*, 16(3): 84-94.

17. Picciotto MR. (2003), Nicotine as a modulator of behavior: beyond the inverted U. *Trends Pharmacol Sci*, 24(9): 493-9.

18. Piri M, Nasehi M, Zarrindast MR. (2010), Interactions between the Cannabinoid and Nicotinic Systems in Inhibitory Avoidance Learning in Mice. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*, 9(3): 162-74.

19. Piri M, Zarrindast MR. (2011), Modulation of WIN55,212-2 state-dependent memory by alpha2-adrenergic receptors of the dorsal hippocampus. *Arch Iran Med*, 14(6): 389-95.

20. Piri M, Zarrindast MR. (2011), Nitric oxide in the ventral tegmental area is involved in retrieval of inhibitory avoidance memory by nicotine. *Neuroscience*.

21. Piri M, Zarrindast MR, Oryan S. (2009), Effects of cannabinoidergic system of CA1 area of dorsal hippocampus on the memory of nicotine sensitized rats. *Advance in Cognitive Science*, 11(2): 27-37.

22. Pontieri FE, Tanda G, Orzi F, Di Chiara G. (1996), Effects of nicotine on the nucleus accumbens and similarity to those of addictive drugs. *Nature*, 382(6588): 255-7.

3. Costanzi M, Battaglia M, Rossi-Arnaud C, Cestari V, Castellano C. (2004), Effects of anandamide and morphine combinations on memory consolidation in cd1 mice: involvement of dopaminergic mechanisms. *Neurobiol Learn Mem*, 81(2): 144-9.

4. Di Chiara G. (2000), Role of dopamine in the behavioural actions of nicotine related to addiction. *Eur J Pharmacol*, 393(1-3): 295-314.

5. Ferrari R, Le Novere N, Picciotto MR, Changeux JP, Zoli M. (2002), Acute and long-term changes in the mesolimbic dopamine pathway after systemic or local single nicotine injections. *Eur J Neurosci*, 15(11): 1810-8.

6. Izquierdo I. (1979), Effect of naloxone and morphine on various forms of memory in the rat: possible role of endogenous opiate mechanisms in memory consolidation. *Psychopharmacology (Berl)*, 66(2): 199-203.

7. Izquierdo I, Bevilaqua LR, Rossato JI, Bonini JS, Medina JH, Cammarota M. (2006), Different molecular cascades in different sites of the brain control memory consolidation. *Trends Neurosci*, 29(9): 496-505.

8. Mahmoudi G, Piri M, Pourmote'abed A, Oryan S, Zarrindast MR. (2010), Effect of muscarinic and NMDA receptors of ventral tegmental area interaction on inhibitory avoidance memory consolidation. *Kowsar Medical Journal*, 15(2): 77-82.

9. Manago F, Castellano C, Oliverio A, Mele A, De Leonibus E. (2009), Role of dopamine receptors subtypes, D1-like and D2-like, within the nucleus accumbens subregions, core and shell, on memory consolidation in the one-trial inhibitory avoidance task. *Learn Mem*, 16(1): 46-52.

10. Martinez RC, Oliveira AR, Macedo CE, Molina VA, Brandao ML. (2008), Involvement of dopaminergic mechanisms in the nucleus accumbens core and shell subregions in the expression of fear conditioning. *Neurosci Lett*, 446(2-3): 112-6.

11. Moshfegh A, Babaei P, Piri M, Oryan S, Soltani B, Zarrindast MR. (2010), Involvement of dorsal hippocampal α 1-adrenergic receptors in the effect of WIN55, 212-2 on memory retrieval in inhibitory avoidance task. *Pharmaceutical Sciences*, 16(2): 99-106 (Persian).

12. Myhrer T. (2003), Neurotransmitter systems involved in learning and memory in



25. Zarrindast MR, Piri M, Nasehi M, Ebrahimi-Ghiri M. (2012), Nitric oxide in the nucleus accumbens is involved in retrieval of inhibitory avoidance memory by nicotine. *Pharmacol Biochem Behav*, 101(1): 166-73.
26. Zarrindast MR, Rezayof A. (2004), Morphine state-dependent learning: sensitization and interactions with dopamine receptors. *Eur J Pharmacol*, 497(2): 197-204.
23. Rezayof A, Shirazi-Zand Z, Zarrindast MR, Nayer-Nouri T. (2010), Nicotine improves ethanol-induced memory impairment: the role of dorsal hippocampal NMDA receptors. *Life Sci*, 86(7-8): 260-6.
24. Zarrindast MR, Bananej M, Khalilzadeh A, Fazli-Tabaei S, Haeri-Rohani A, Rezayof A. (2006), Influence of intracerebroventricular administration of dopaminergic drugs on morphine state-dependent memory in the step-down passive avoidance test. *Neurobiol Learn Mem*.