

## نقش گیرنده های موسکاربینی و NMDA ناحیه تگمتوم شکمی در به یاد آوری حافظه اجتنابی مهاری

گلاویز محمودی<sup>۱</sup>، مرتضی پیری<sup>۲\*</sup>، علی پورمتعبد<sup>۳</sup>، صبریه امینی<sup>۴</sup>

### چکیده

اما بکار بردن همزمان آن با مقدار موثر اسکوپولامین اثر تخریبی اسکوپولامین بر روی حافظه را مهار می نماید. این یافته ها شاید نشان دهنده این مطلب باشد که گیرنده های موسکاربینی استیل کولین و گیرنده های NMDA ناحیه تگمتوم شکمی از طریق اثر بر روی نورون های دوپامینرژیک منشاء گرفته از این ناحیه به یاد آوری حافظه اجتنابی مهاری را اثر می گذارند.

**واژه های کلیدی:** اسکوپولامین، گیرنده NMDA، به یاد آوری حافظه، یادگیری اجتنابی مهاری، موش صحرائی

### مقدمه

مطالعات فارماکولوژیکی بر روی حافظه به این امید انجام می گیرد که یافته های رفتاری همراه با مکانیسم عمل داروها مورد توجه قرار گیرد تا به روشن شدن اساس نوروبیولوژیکی حافظه و یادگیری کمک نماید [۱۵]. مدل یادگیری اجتنابی مهاری به صورت گسترده در مطالعات فارماکولوژیکی، برای بررسی حافظه دراز مدت که در ایجاد آن هیپوکامپ یا ساختارهای جانبی مانند استریاتوم نقش دارند مورد استفاده قرار می گیرد [۱۵، ۱۶].

گزارشات متعددی وجود دارند که نشان دهنده اهمیت سیستم کولینرژیک در حافظه و یادگیری می باشند [۲]. نشان داده شده است که مهارکننده های استیل کولین استراز که میزان استیل کولین را در فضای سیناپسی افزایش می دهند باعث بهبود عملکرد شناختی در جوندگان و انسان می شوند در حالیکه داروهای آنتی کولینرژیک باعث تخریب حافظه و یادگیری در مدل های مختلف یادگیری می شوند [۴۰]. همچنین نشان داده

مطالعات رفتاری نشان می دهد که برهمکنش بین سیستم کولینرژیک و گلو تاماترژیک وجود دارد. در این مطالعه اثر تزریق پیش از آزمون آنتاگونیست غیر انتخابی گیرنده های موسکاربینی، اسکوپولامین، داروهای گلو تاماترژیک و برهمکنش آنها در زمینه حافظه اجتنابی مهاری مورد بررسی قرار گرفته است. موش های صحرائی با تزریق درون صفاقی کتامین هیدروکلراید بعلاوه زایلزین بی هوش شدند و سپس با استفاده از دستگاه استریوتاکسی دو کانول در ناحیه تگمتوم شکمی قرار داده شد. روش اجتنابی مهاری مدل Step-through برای سنجش حافظه در موش های صحرائی نر استفاده شد. داروها پنج دقیقه قبل از آزمون تزریق شدند و تاخیر در ورود به خانه سیاه با استفاده از کرنومتر به عنوان معیار حافظه اجتنابی مهاری سنجیده شد. نتایج نشان می دهد که تزریق اسکوپولامین ( $4, 3 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) و  $\text{MK801}$ ، آنتاگونیست گیرنده NMDA ( $2, 1 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) ۵ دقیقه قبل از آزمون، باعث تخریب به یادآوری حافظه می شود. بعلاوه بکار بردن مقادیر غیر موثر  $\text{MK801}$  ( $0/5 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) و اسکوپولامین ( $2, 1 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) همراه با هم، حافظه اجتنابی مهاری را کاهش می دهد. اگرچه تزریق قبل از آزمون NMDA ( $0/01, 0/01 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) به ناحیه تگمتوم شکمی به تنهایی اثری بر روی حافظه نداشت،

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمانشاه

۲- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد

اردبیل

۳- گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

۴- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد

سنندج



شده است که عملکرد نورونهای کولینرژیک در طی یادگیری تغییر می کند و این نورونها فعالتر از حالت استراحت می گردند [۳۵] و افزایش استیل کولین همبستگی مثبتی با میزان یادگیری دارد [۹].

ورودیهای دوپامینرژیک که از ناحیه تگمتوم شکمی وارد هیپوکامپ می شوند، می توانند مراحل مختلف شکل گیری حافظه را در هیپوکامپ تعدیل کرده و تحت تاثیر قرار دهند [۱۲، ۱۳، ۱۷، ۳۶]. از طرف دیگر میزان رهایش دوپامین از نورون های دوپامینرژیک ناحیه تگمتوم شکمی در نواحی هدف توسط ورودیهای تحریکی و مهاری که به این ناحیه وارد می شود کنترل می گردد [۳۷]. اصلی ترین ورودی های تحریکی به ناحیه تگمتوم شکمی، نورون های گلوتاماترژیک هستند که از بخش میانی قشر پرفرونتال منشاء می گیرند

[۴]. اصلی ترین ورودیهای مهاری نیز نورون های گابائترژیک هستند که شامل نورون های رابط موضعی و نورون های منشاء گرفته از هسته اکومینس و پالیدیوم شکمی می باشند [۱۸]. ناحیه تگمتوم شکمی همچنین ورودی های کولینرژیک را از هسته pedunculopontine دریافت می کند. باید توجه داشت که در جسم سلولی و دندریت نورون های ناحیه تگمتوم شکمی و جسم سیاه گیرنده های نیکوتینی و موسکارینی استیل کولین بیان می شوند و این گیرنده های استیل کولینی نقش مهمی در تنظیم و تعدیل عملکرد نورون های دوپامینرژیک این نواحی دارند [۲۸، ۳۴]. گزارش شده است که گلوتامات همراه با استیل کولین می تواند باعث فعال سازی نورون های دوپامینرژیک ناحیه تگمتوم شکمی با الگوی خاص شود [۲۵].

فرآیند شکل گیری حافظه دارای مراحل به رمز در آوردن، تثبیت، ذخیره سازی<sup>۳</sup> و به یاد آوری<sup>۴</sup> می باشد و در طی این مراحل مختلف میانجی های عصبی مختلف

در گیر می باشند. در مطالعه حاضر تزریق داروهای کولینرژیک و گلوتاماترژیک قبل از آزمون صورت گرفته است، بنابراین بررسی اثر داروها بر روی مرحله به یاد آوری اطلاعات ذخیره شده در حافظه مد نظر بوده است. بر اساس آنچه در بالا ذکر گردید، این احتمال وجود دارد که فعال شدن همزمان گیرنده های کولینرژیک و NMDA در ناحیه تگمتوم شکمی، بتواند رهایش دوپامین از نورون های این ناحیه را تغییر دهد و از این طریق مراحل مختلف حافظه از جمله به یادآوری حافظه را تحت تاثیر قرار دهد. بنابراین در این مطالعه برای اولین بار برهمکنش گیرنده های موسکارینی و NMDA ناحیه تگمتوم شکمی در زمینه به یاد آوری حافظه اجتنابی مهاری مورد بررسی قرار گرفت.

### مواد و روش ها

در آزمایش ها از موش صحرایی نر نژاد ویستار (وزن تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ گرم) که از انستیتو پاستور ایران تهیه شد استفاده گردید. در طول آزمایش ها آب و غذای کافی در اختیار موش ها قرار گرفت و دمای حیوانخانه بین  $22 \pm 3$  درجه سانتیگراد متغیر بود. موش ها در گروه های هشت تایی قرار داده شدند.

دستگاه یادگیری اجتنابی مهاری (غیر فعال)<sup>۵</sup>، مدل Step-Through، از جعبه ای تشکیل شده که به وسیله دیواره ای به دو قسمت با اندازه یکسان (با ابعاد ۲۰×۲۰×۳۰ سانتی متر) تقسیم می شود. درون دیواره بین دو قسمت درب کشویی به ابعاد ۷×۹ سانتی متر تعبیه شده است. این دستگاه دارای دو بخش سفید و سیاه رنگ می باشد، بخش سیاه رنگ در قسمت کف دارای میله های فولادی با فاصله یک سانتی متر بوده و شوک الکتریکی از طریق این میله ها به حیوانات مورد آزمایش وارد می شود.

- 1-Encoding
- 2 - Consolidation
- 3 - Storage
- 4 - Retrieval

5 - inhibitory (passive) avoidance apparatus



حافظه کامل شناخته می‌شود ۳۰۰ ثانیه در نظر گرفته می‌شود.

داروهای مورد استفاده در این تحقیق عبارت بودند از اسکوپولامین هیدروبروماید<sup>۶</sup> (سیگما، آمریکا)، ان - متیل - دی - اسپاراتات (NMDA)<sup>۷</sup> و MK801 (تاکریس، آمریکا). که تمامی داروها بلافاصله قبل از آزمایش‌ها در سرم فیزیولوژیک ۰/۹ درصد حل گردیدند. در مرحله تزریق پس از برداشتن سیم داخل کانول راهنما، سر سوزن ۲۷ G دندانپزشکی در داخل کانول راهنما ۲۲ G قرار داده شده، در هر کانول ۳/۰ میکرولیتر دارو در مدت ۶۰ ثانیه تزریق شد.

پس از کشتن حیوان‌ها توسط کلروفورم با تزریق رنگ متیلن بلو ۱٪ (۰/۳ μl) به درون هر دو کانول، مغز از درون مجسمه بیرون آورده شده، درون فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت. پس از یک هفته، محل ورود کانول به مغز به وسیله میکروسکوپ لوپ مورد مطالعه قرار گرفت.

نمره حافظه هر گروه به صورت میانگین و انحراف معیار استاندارد (Mean ± S.E.M) ثبت گردید. به منظور تعیین وجود اختلاف معنادار بین گروه‌ها آزمایش، از روش تحلیل واریانس یک طرفه<sup>۸</sup> یا دو طرفه<sup>۹</sup> و آزمون توکی<sup>۱۰</sup> استفاده گردید. برای انجام محاسبات آماری از نرم افزار SPSS و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

### تیمارهای دارویی و آزمایش‌های انجام شده

۱- آزمایش اول: بررسی تأثیر اسکوپولامین در ناحیه تگمتوم شکمی بر روی به یاد آوری حافظه اجتنابی مهاری

در این آزمایش اثر اسکوپولامین، آنتاگونیست غیر اختصاصی گیرنده موسکارینی، بر روی به یاد آوری حافظه اجتنابی مهاری مورد بررسی قرار گرفت. پنج گروه

موش‌های صحرایی توسط تزریق کتامین هیدروکلراید<sup>۱</sup> (۵۰ mg/kg) و بعلاوه زایلین<sup>۲</sup> (۴ mg/kg) بی‌هوش شدند. بعد از بی‌هوشی حیوانات در دستگاه استریوتاکسی قرار داده شده و دو کانول راهنمای (۲۲G)<sup>۳</sup> به صورت دو طرفه بر اساس اطلس پاکسینوس و واتسون (۱۹۹۷) در ناحیه تگمتوم شکمی قرار داده شد. مختصات ناحیه تگمتوم شکمی برابر (V = - ۶/۸, ML = ± ۰/۹, AP = - ۴/۸) بود [۳۱].

روش اجتنابی مهاری برای بررسی حافظه در موشهای صحرایی در دو روز متوالی انجام می‌شود. روز اول یا روز آموزش<sup>۴</sup> شامل آموزش دادن حیوان‌ها در دستگاه بوده و در روز دوم یا روز آزمون<sup>۵</sup> میزان حافظه حیوان‌های آموزش دیده بررسی می‌شود. در روش اجتنابی مهاری مدل Step-through، هر حیوان به آرامی در بخش روشن دستگاه قرار می‌گیرد، پس از گذشت ۵ ثانیه درب کشویی باز شده، به حیوان اجازه داده می‌شود 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 می‌شود. پس از گذشت ۳۰ دقیقه این حیوان دوباره به بخش سفید دستگاه منتقل شده و بعد از ۵ ثانیه درب کشویی باز می‌شود 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 را دریافت می‌کند. آزمون ۲۴ ساعت پس از مرحله آموزش انجام می‌شود. برای بررسی حافظه، هر موش، همانند روز اول، در بخش روشن دستگاه قرار گرفته، درب کشویی بعد از ۵ ثانیه باز شده و زمان تأخیر حیوان 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

6 - scopolamine hydrobromide

7 - N-methyl-D- aspartate

8-One-way ANOVA

9 - Two-way ANOVA

10- Tukey's test

1- ketamine hydrochloride

2- xylazine

3- gauge

4- training day

5- testing day



یادگیری را در مدل‌های مختلف یادگیری تخریب می‌نمایند [۱، ۱۹]. همچنین تخریب یا عملکرد ناقص نورونهای کولینرژیک ارتباط تنگاتنگی با نقص‌های شناختی ایجاد شده در بیماران آلزایمری دارد [۶].

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تزریق پیش از آزمون اسکوپولامین به داخل ناحیه تگمتوم شکمی، میزان حافظه حیوان را کاهش می‌دهد. نتایج ما همچنین نشان می‌دهد که مشابه با اسکوپولامین، تزریق پیش از آزمون MK801 (آنتاگونیست گیرنده‌های NMDA) باعث کاهش حافظه حیوان در روز آزمون می‌شود. جالب‌تر اینکه بکار بردن همزمان مقادیر غیر مؤثر اسکوپولامین با MK801 به صورت معنی‌داری منجر به کاهش حافظه اجتنابی مهار می‌شود. نتایج این مطالعه همچنین نشان می‌دهد که تزریق پیش از آزمون مقادیری از NMDA که به تنهایی اثر معنی‌داری بر روی حافظه اجتنابی مهار ندارد، همراه با مقادیر مؤثر اسکوپولامین از اثر تخریبی اسکوپولامین بر روی حافظه جلوگیری می‌نماید. در راستای مطالعه حاضر گزارشاتی وجود دارد که نشان می‌دهد آنتاگونیست‌های رقابتی و غیر رقابتی NMDA قادر به تخریب حافظه و یادگیری در مدل‌های مختلف یادگیری می‌باشند [۱۱، ۱۴]. همچنین گزارش شده که اسکوپولامین و MK801 باعث تخریب حافظه اجتنابی مهار می‌شود [۷، ۲۲]. ثابت شده است که MK801 اثرات اسکوپولامین بر حافظه موش‌های صحرایی را تقویت می‌نماید، این یافته‌ها پیشنهاد می‌نمایند که یک اثر تعدیل‌کنندگی متقابل بین سیستم‌های موسکارینی و گلوتاماتی وجود دارد، که از نظر عملکرد شناختی این برهمکنش حائز اهمیت زیادی می‌باشد [۲۶].

استیل‌کولین و گلوتامات نقش اساسی در تغییر شکل سیناپسی، یادگیری و حافظه دارند [۵، ۷]. نشان داده شده است که تزریق آگونیست گیرنده NMDA یا آگونیست نسبی آن به نواحی مختلف مغز باعث بهبود حافظه می‌شود [۱۰، ۱۱]. در برخی دیگر از مطالعات اثرات تخریبی تزریق پیش از آزمون آنتاگونیست گیرنده‌های

(۲، F) اثر معنی‌دار بر روی حافظه دارند. نتایج آزمون مکمل توکی نشان داد که گروه‌هایی که اسکوپولامین (۰/۵ μg/rat) را به همراه MK801 (۲، ۱ μg/rat) دریافت کرده بودند، در مقایسه با گروه‌هایی که اسکوپولامین یا MK801 را به تنهایی دریافت کرده بودند، تخریب حافظه معنی‌داری داشتند. (نمودار ۳).

[محل تقریبی نمودار ۳]

۴- آزمایش چهارم: نتایج تزریق پیش از آزمون NMDA بر روی تخریب حافظه القاء شده با اسکوپولامین

نتایج آنالیز واریانس دو طرفه نشان داد که داروی اسکوپولامین [F (۱، ۴۲) = ۴۳/۲۸، p < ۰/۰۰۱] و مقادیر مختلف NMDA [F (۲، ۴۲) = ۴/۸۳، p < ۰/۰۵] اثر معنی‌داری بر روی حافظه دارند. نتایج آزمون مکمل توکی نشان داد که مقادیر مختلف NMDA (۰/۰۱، ۰/۰۱ μg/rat) می‌تواند جلوی تخریب ایجاد شده با مقدار مؤثر اسکوپولامین (۴ μg/rat) را بگیرد (نمودار ۴).

[محل تقریبی نمودار ۴]

### بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه برهمکنش گیرنده‌های موسکارینی و NMDA در ناحیه تگمتوم شکمی در زمینه به یادآوری حافظه مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی حافظه از دستگاه یادگیری اجتنابی مهار مدل step-through که یک مدل پذیرفته شده برای بررسی حافظه درازمدت در جوندگان می‌باشد استفاده شد. با توجه به اینکه تمامی داروهای بکار رفته در این تحقیق اعم از آنتاگونیست گیرنده موسکارینی و آگونیست و آنتاگونیست گیرنده NMDA، ۵ دقیقه قبل از آزمون تزریق شده‌اند، اثر این داروها بر روی به یادآوری حافظه اجتنابی مهار مورد سنجش قرار گرفت.

مطالعات متعدد نشان می‌دهند که استیل‌کولین مغز نقش مهمی در حافظه و یادگیری و فرآیند توجه دارد [۸، ۳۸]، گزارش شده است که داروهای آنتی‌کولینرژیک حافظه و



NMDA بر روی حافظه گزارش شده است [۱۴, ۳۲]. از طرف دیگر برهمکنش بین سیستم کولینرژیک و گلوتاماترژیک گزارش شده است. به عنوان مثال استیل کولین با اثر بر روی گیرنده های موسکارینی، پاسخ ایجاد شده از طریق گیرنده های NMDA را تقویت می نمایند و باعث تسهیل طولانی مدت پتانسیل پس سیناپسی تحریکی در هیپوکامپ می شوند [۲۳, ۲۴]. بر اساس آنچه که بیان گردید، این احتمال وجود دارد که بین سیستم کولینرژیک و گیرنده های NMDA در ناحیه تگمنتوم شکمی نیز در فرآیند حافظه برهمکنش وجود داشته باشد.

اگر چه حافظه اجتنابی مهارى به صورت اصلی وابسته به هیپوکامپ پشتی می باشد، اما باید توجه داشت که فرآیند حافظه در هیپوکامپ پشتی توسط چندین بخش از دستگاه لیمبیک نظیر ناحیه تگمنتوم شکمی، استریاتوم و آمیگدال تحت تأثیر قرار می گیرد [۳, ۲۰, ۳۳]. یک حلقه ارتباطی بین هیپوکامپ و ناحیه تگمنتوم شکمی وجود دارد، تحریک نورون های دوپامینرژیک ناحیه تگمنتوم شکمی، می تواند فرآیند حافظه در هیپوکامپ را تحت تأثیر قرار دهد [۲۰, ۲۱].

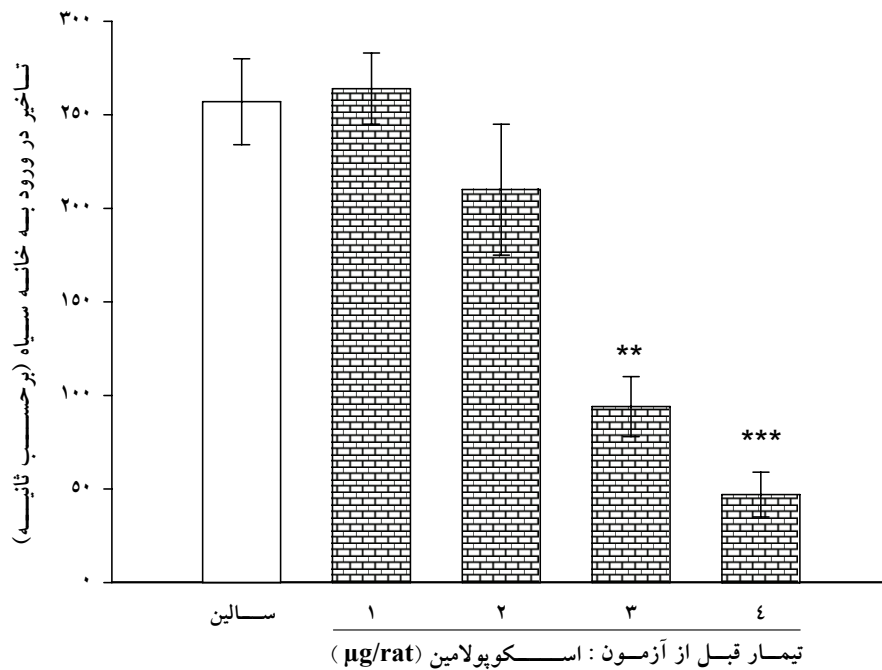
مطالعات نشان می دهد که تحریک ورودیهای کولینرژیک که به ناحیه تگمنتوم شکمی وارد می شوند باعث ایجاد یک پتانسیل پس سیناپسی تحریکی در نورون های دوپامینرژیک مزولیمبیک می شود که این پتانسیل پس سیناپسی تحریکی توسط بلوکرهای گیرنده های گلوتاماتی و کولینرژیک مهار می شود [۳۹]. نشان داده شده است که اثرات کوتاه مدت تحریک گیرنده های می گردد.

گلوتاماتی در استریاتوم و هسته اکومبئس در بیان mRNA پروانکفالین توسط سیستم دوپامینی در مغز موش صحرایی تعدیل می شود [۲۹]. مسیر دوپامینی پرفرونال و اثرات شناختی اعمال شده توسط این مسیر توسط سیستم های نورترانسپرتی مختلف تنظیم می شود و ناحیه تگمنتوم شکمی یک محل تنظیمی مهم برای این اثرات می باشد [۲۷]. تزریق NMDA به ناحیه تگمنتوم شکمی باعث القاء یک فعالیت پایدار در نورون های هرمی پرفرونال می شود [۳۰]. با کنار هم قرار دادن نتایج بدست آمده در این تحقیق شاید بتوان نتیجه گرفت که مهار گیرنده های موسکارینی استیل کولین و گیرنده های NMDA در ناحیه تگمنتوم شکمی فعالیت مسیر دوپامینی مزولیمبیک را کاهش داده و حافظه اجتنابی مهارى را در نواحی هدف مانند هیپوکامپ و کورتکس پرفرونال تحت تأثیر قرار می دهد.

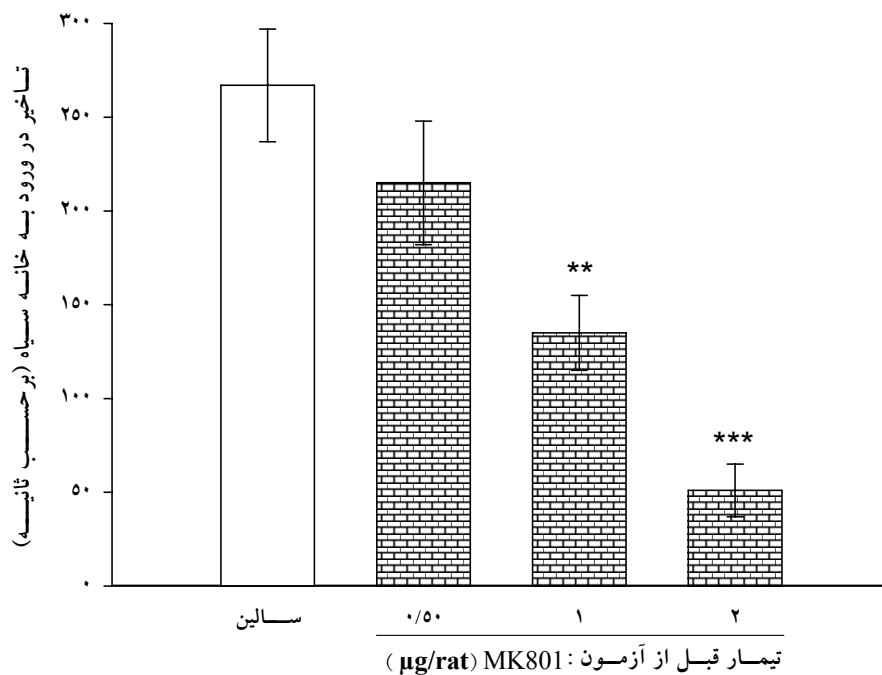
مطالعه حاضر نشان می دهد که اسکوپولامین و MK801 در ناحیه تگمنتوم شکمی احتمالاً به واسطه مهار نورون های دوپامینرژیک منشاء گرفته از این ناحیه اثرات خود را اعمال می نمایند. این ایده توسط مطالعاتی که نشان دهنده اثرات تعدیلی دوپامین بر روی حافظه در هسته های مختلف دستگاه لیمبیک است، تقویت می گردد.

### سپاسگزاری

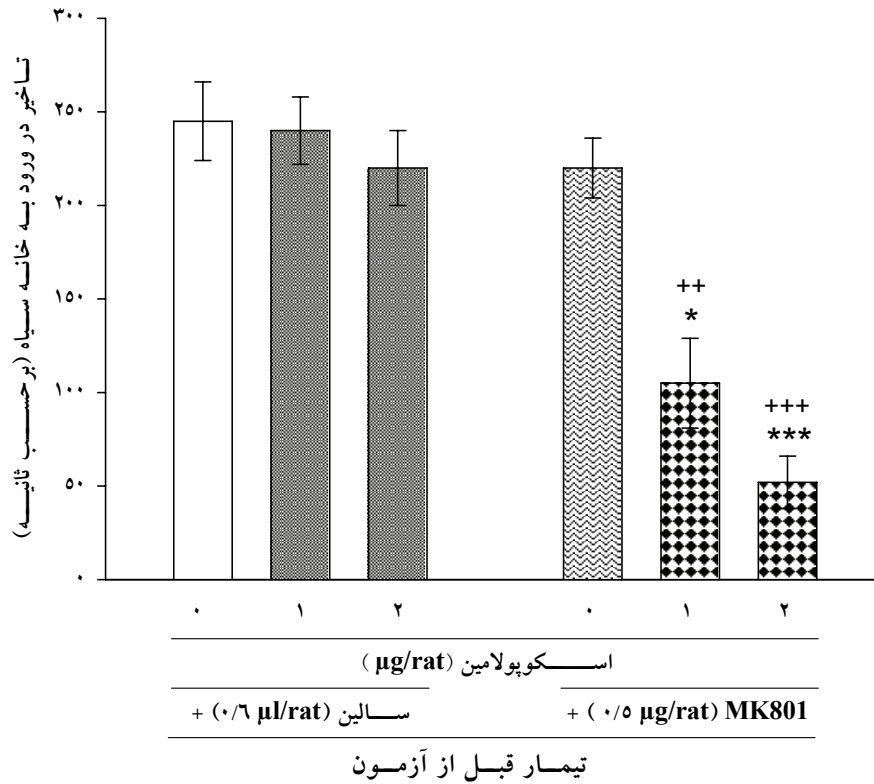
بدین وسیله از زحمات مریم السادات شاهین که ما را در آماده سازی این مقاله یاری نموده اند تشکر و قدردانی می نمایم.



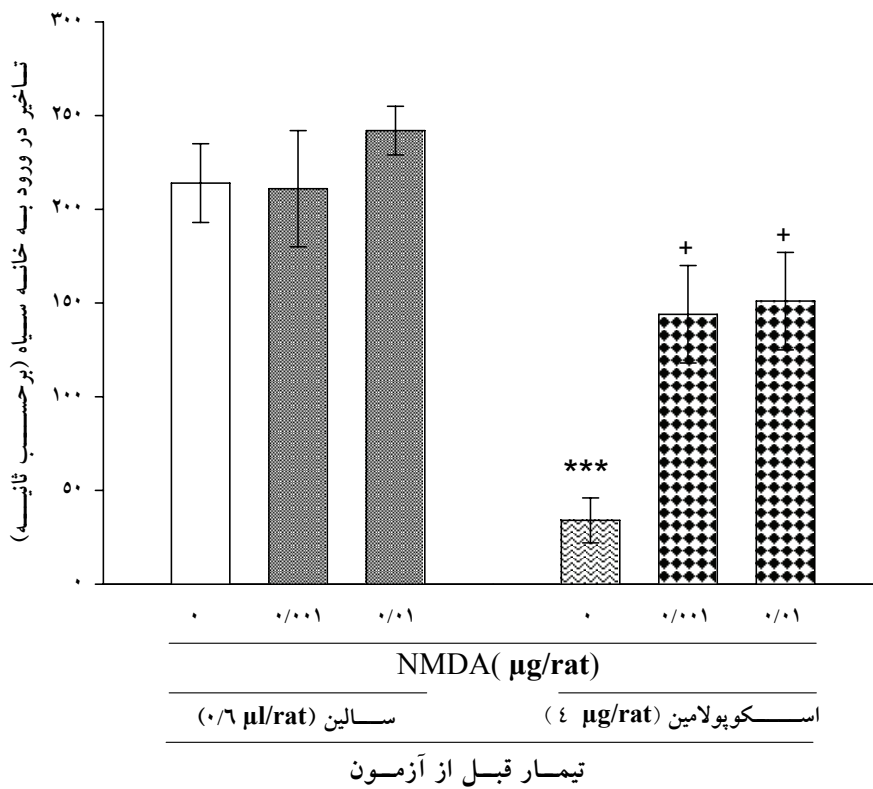
اثر تزریق پیش از آزمون اسکوپولامین (آنتاگونیست غیر اختصاصی گیرنده های موسکارینی) به ناحیه تگمتوم شکمی بر روی به یاد آوری حافظه اجتنابی مهاری.  $P < 0.05$ ،  $P < 0.001$  در مقایسه با گروه سالین می باشد.



اثر تزریق پیش از آزمون MK801 (آنتاگونیست غیر رقابتی گیرنده NMDA) به ناحیه تگمتوم شکمی بر روی به یاد آوری حافظه اجتنابی مهاری.  $P < 0.05$ ،  $P < 0.001$  در مقایسه با گروه سالین می باشد.



اثر تزریق پیش از آزمون اسکوپولامین (آنتاگونیست غیر اختصاصی گیرنده های موسکارینی) در حضور و عدم حضور MK801 (آنتاگونیست غیر رقابتی گیرنده NMDA) بر روی به یاد آوری حافظه اجتنابی مهاری.  $P < 0.001$  در مقایسه با گروه سالیین و  $P < 0.05$  در مقایسه با MK801 (0.5 µg/rat) می باشد.



اثر تزریق NMDA بر روی تخریب حافظه القاء شده با تزریق اسکوپولامین به داخل ناحیه تگمنتوم شکمی.  $P < 0.001$  در مقایسه با گروه سالیین و  $P < 0.05$  در مقایسه با اسکوپولامین (2 µg/rat) می باشد.



## منابع :

1. Aigner TG. (1995). Pharmacology of memory: cholinergic-glutamatergic interactions. *Curr Opin Neurobiol.*5(2):155-60.
2. Blokland A. (1995). Acetylcholine: a neurotransmitter for learning and memory? *Brain Res Brain Res Rev.*21(3):285-300.
3. Cammarota M, Bevilaqua LR, Medina JH, Izquierdo I. (2004). Retrieval does not induce reconsolidation of inhibitory avoidance memory. *Learn Mem.*11(5):572-8.
4. Carr DB, Sesack SR. (2000). Projections from the rat prefrontal cortex to the ventral tegmental area: target specificity in the synaptic associations with mesoaccumbens and mesocortical neurons. *J Neurosci.*20(10):3864-73.
5. Castellano C, Cestari V, Ciamei A. (2001). NMDA receptors and learning and memory processes. *Curr Drug Targets.*2(3):273-83.
6. Coyle JT, Price DL, DeLong MR. (1983). Alzheimer's disease: a disorder of cortical cholinergic innervation. *Science.*219(4589):1184-90.
7. da Silva AL, Silva Martins B, Linck Vde M, Herrmann AP, Mai N, Nunes DS, Elisabetsky E. (2009). MK801- and scopolamine-induced amnesias are reversed by an Amazonian herbal locally used as a "brain tonic". *Psychopharmacology (Berl).*202(1-3):165-72.
8. Everitt BJ, Robbins TW. (1997). Central cholinergic systems and cognition. *Annu Rev Psychol.*48:649-84.
9. Fadda P, Robinson L, Fratta W, Pertwee RG, Riedel G. (2006). Scopolamine and MK801-induced working memory deficits in rats are not reversed by CBD-rich cannabis extracts. *Behav Brain Res.*168(2):307-11.
10. Flood JF, Baker ML, Davis JL. (1990). Modulation of memory processing by glutamic acid receptor agonists and antagonists. *Brain Res.*521(1-2):197-202.
11. Francis PT, Sims NR, Procter AW, Bowen DM. (1993). Cortical pyramidal neurone loss may cause glutamatergic hypoactivity and cognitive impairment in Alzheimer's disease: investigative and therapeutic perspectives. *J Neurochem.*60(5):1589-604.
12. Gasbarri A, Packard MG, Campana E, Pacitti C. (1994). Anterograde and retrograde tracing of projections from the ventral tegmental area to the hippocampal formation in the rat. *Brain Res Bull.*33(4):445-52.
13. Gasbarri A, Verney C, Innocenzi R, Campana E, Pacitti C. (1994). Mesolimbic dopaminergic neurons innervating the hippocampal formation in the rat: a combined retrograde tracing and immunohistochemical study. *Brain Res.*668(1-2):71-9.
14. Izquierdo I, da Cunha C, Rosat R, Jerusalinsky D, Ferreira MB, Medina JH. (1992). Neurotransmitter receptors involved in post-training memory processing by the amygdala, medial septum, and hippocampus of the rat. *Behav Neural Biol.*58(1):16-26.
15. Izquierdo I, McGaugh JL. (2000). Behavioural pharmacology and its contribution to the molecular basis of memory consolidation. *Behav Pharmacol.*11(7-8):517-34.
16. Izquierdo I, Medina JH. (1997). Memory formation: the sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures. *Neurobiol Learn Mem.*68(3):285-316.
17. Jay TM. (2003). Dopamine: a potential substrate for synaptic plasticity and memory mechanisms. *Prog Neurobiol.*69(6):375-90.
18. Kalivas PW, Churchill L, Klitenick MA. (1993). GABA and enkephalin projection from the nucleus accumbens and ventral pallidum to the ventral tegmental area. *Neuroscience.*57(4):1047-60.
19. Li HB, Matsumoto K, Tohda M, Yamamoto M, Watanabe H. (1997). NMDA antagonists potentiate scopolamine-induced amnesic effect. *Behav Brain Res.*83(1-2):225-8.
20. Lisman JE, Grace AA. (2005). The hippocampal-VTA loop: controlling the entry of information into long-term memory. *Neuron.*46(5):703-13.
21. Lisman JE, Otmakhova NA. (2001). Storage, recall, and novelty detection of sequences by the hippocampus: elaborating on the SOCRATIC model to account for normal and aberrant effects of dopamine. *Hippocampus.*11(5):551-68.
22. Liu TL, Chen DY, Liang KC. (2009). Post-training infusion of glutamate into the bed nucleus of the stria terminalis enhanced inhibitory avoidance memory: an



- effect involving norepinephrine. *Neurobiol Learn Mem.*91(4):456-65.
23. Markram H, Segal M. (1990).Acetylcholine potentiates responses to N-methyl-D-aspartate in the rat hippocampus. *Neurosci Lett.*113(1):62-5.
  24. Markram H, Segal M. (1990).Long-lasting facilitation of excitatory postsynaptic potentials in the rat hippocampus by acetylcholine. *J Physiol.*427:381-93.
  25. Mena-Segovia J, Winn P, Bolam JP. (2008).Cholinergic modulation of midbrain dopaminergic systems. *Brain Res Rev.*58(2):265-71.
  26. Monteiro Moreira K, Lima Ferreira T, Vecchio Fornari R, Perez Figueredo LZ, Menezes Oliveira MG. (2005).Interaction between M1-muscarinic and glutamatergic NMDA receptors on an inhibitory avoidance task. *Brain Res Bull.*67(6):504-8.
  27. Murphy BL, Arnsten AF, Jentsch JD, Roth RH. (1996).Dopamine and spatial working memory in rats and monkeys: pharmacological reversal of stress-induced impairment. *J Neurosci.*16(23):7768-75.
  28. Nastuk MA, Graybiel AM. (1991).Pharmacologically defined M1 and M2 muscarinic cholinergic binding sites in the cat's substantia nigra: development and maturity. *Brain Res Dev Brain Res.*61(1):1-10.
  29. Noailles PA, Villegas M, Ledoux M, Lucas LR, McEwen BS, Angulo JA. (1996).Acute treatment with the N-methyl-D-aspartate receptor antagonist MK801: effect of concurrent administration of haloperidol or scopolamine on preproenkephalin mRNA levels of the striatum and nucleus accumbens of the rat brain. *Neurosci Lett.*202(3):165-68.
  30. Onn SP, Wang XB. (2005).Differential modulation of anterior cingulate cortical activity by afferents from ventral tegmental area and mediodorsal thalamus. *Eur J Neurosci.*21(11):2975-92.
  31. Paxinos G, & Watson, C. The rat brain in stereotaxic coordinates  
ed r, editor. San Diego: Academic Press; 1997.
  32. Roesler R, Vianna M, Sant'Anna MK, Kuyven CR, Krueel AV, Quevedo J, Ferreira MB. (1998).Intrahippocampal infusion of the NMDA receptor antagonist AP5 impairs retention of an inhibitory avoidance task: protection from impairment by pretraining or preexposure to the task apparatus. *Neurobiol Learn Mem.*69(2):87-91.
  33. Rossato JI, Zinn CG, Furini C, Bevilacqua LR, Medina JH, Cammarota M, Izquierdo I. (2006).A link between the hippocampal and the striatal memory systems of the brain. *An Acad Bras Cienc.*78(3):515-23.
  34. Sorenson EM, Shiroyama T, Kitai ST. (1998).Postsynaptic nicotinic receptors on dopaminergic neurons in the substantia nigra pars compacta of the rat. *Neuroscience.*87(3):659-73.
  35. Stancampiano R, Cocco S, Cugusi C, Sarais L, Fadda F. (1999).Serotonin and acetylcholine release response in the rat hippocampus during a spatial memory task. *Neuroscience.*89(4):1135-43.
  36. Wittmann BC, Schott BH, Guderian S, Frey JU, Heinze HJ, Duzel E. (2005).Reward-related fMRI activation of dopaminergic midbrain is associated with enhanced hippocampus-dependent long-term memory formation. *Neuron.*45(3):459-67.
  37. Wonnacott S, Sidhpura N, Balfour DJ. (2005).Nicotine: from molecular mechanisms to behaviour. *Curr Opin Pharmacol.*5(1):53-9.
  38. Ye L, Qi JS, Qiao JT. (2001).Long-term potentiation in hippocampus of rats is enhanced by endogenous acetylcholine in a way that is independent of N-methyl-D-aspartate receptors. *Neurosci Lett.*300(3):145-8.
  39. Yeomans J, Forster G, Blaha C. (2001).M5 muscarinic receptors are needed for slow activation of dopamine neurons and for rewarding brain stimulation. *Life Sci.*68(22-23):2449-56.
  40. Zarrindast MR, Bakhsha A, Rostami P, Shafaghi B. (2002).Effects of intrahippocampal injection of GABAergic drugs on memory retention of passive avoidance learning in rats. *J Psychopharmacol.*16(4):313-9.