بررسی اثر تزریق آگونیست گیرنده D2 در هسته آکومبنس بر برگشت فراموشی القاء شده با مورفین توسط نیکوتین در رت‌های نر

روناک عزیز بیگی[۱]، مریم السادات شاهین[۲] و مرتضی پیری[۳]*

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

۲- عضو باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرری ، گروه زیست‌شناسی، 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 آگونیست گیرنده D2 دوپامینی (سولپیراید) به هسته آکومبنس بر روی اثر نیکوتین روی فراموشی القاء شده با مورفین می‌باشد. این مطالعه تجربی بر روی ۱۸۵ موش صحرایی نر انجام شد. موش‌ها با تزریق درون صفاقی کتامین هیدروکلراید، بعلاوه زایلزین بی هوش شدند و سپس در دستگاه استریوتاکسی قرار داده شدند. دو کانول در پوسته هسته آکومبنس 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 می‌گردد. تزریق قبل از آزمون آگونیست گیرنده D2 دوپامینی (سولپیراید) به داخل هسته آکومبنس 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 آکومبنس، نقش مهمی در اثرات بهبود بخش نیکوتین بر روی فراموشی القاء شده با مورفین دارند.

کلمات کلیدی: مورفین، نیکوتین، گیرنده‌های دوپامینی D2 ، هسته آکومبنس، حافظه اجتنابی مهاری

مقدمه

شکل‌گیری حافظه یک فرآیند پیچیده می‌باشد که در آن مراکز مغزی مختلف و میانجی‌های عصبی مختلف دخیل می باشند [٦]. شواهد موجود نشان می‌دهد که هسته آکومبنس یکی از مراکز عصبی مهم و دوپامین یکی از ناقل‌های عصبی مهم دخیل در فرآیند حافظه و بویژه حافظه اجتنابی مهاری می‌باشند [٤، ٨، ١٠]. به عنوان نمونه در موش‌های کوچک آزمایشگاهی تزریق آنتاگونیست گیرنده‌های D1 دوپامینی بلافاصله بعد از آموزش به بخش مرکزی هسته آکومبنس باعث تخریب حافظه اجتنابی مهاری می گردد ولی تزریق آن دو ساعت بعد از آموزش اثر تخریبی بر روی حافظه ندارد، همچنین تزریق این آنتاگونیست به بخش قشری هسته آکومبنس اثر تخریبی در پی ندارد [۹]. در مورد آنتاگونیست گیرنده های D2 دوپامینی، تأثیرگذاری بیشتر نیز می‌باشد چرا که تزریق آنتاگونیست گیرنده‌های D2 دوپامینی به بخش قشری یا مرکزی هسته آکومبنس بلافاصله بعد از آموزش باعث تخریب حافظه اجتنابی مهاری می‌گردد [۹]. این تجربیات شاید نشان دهنده اهمیت بیشتر گیرنده‌های دوپامینی D2 در هسته آکومبنس، در فرآیند حافظه باشد.

از طرف دیگر مورفین و نیکوتین جزء داروهایی می‌باشند که هر دو مورد سوء مصرف قرار می‌گیرند و یکی از اصلی ترین ویژگی‌های مشترک این دو ماده فعال کردن سیستم دوپامینی مزولیمبیک و افزایش رهایش دوپامین در نواحی هدف ناحیه تگمنتوم شکمی از جمله هسته آکومبنس می‌شود [١٤، ١٨، ٢١]. مطالعات انجام شده به روش میکرودیالیز در حیوانات آزمایشگاهی تأثیر تزریق

Archive of SID

www.SID.ir

مورفین و نیکوتین به صورت سیستمیک بر روی سطح دوپامین خارج سلولی در هسته آکومبنس 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 می‌باشند [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 آکومبنس 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 ناقلهای 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 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 آکومبنس را افزایش می‌دهد و این دو ماده شرایط یکسانی را در هسته آکومبنس 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 آکومبنس قبل از تزریق نیکوتین در روز آزمون باید جلوی برگشت حافظه با نیکوتین روز آزمون را بگیرد. ما در مطالعات پیشین همچنین 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 گیرنده‌ها در هسته آکومبنس در میانجی‌گری اثرات نیکوتین مورد بررسی قرار می گیرد.

مواد و روش کار

در این مطالعه تجربی که در پژوهشکده علوم شناختی (تهران ـ ایران) انجام گرفت، از ۱۸۵ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به وزن تقریبی۲۵۰–۲۰۰ گرم که از انستیتو پاستور ایران تهیه شدند استفاده گردید. حیوان‌ها به

Archive of SID

www.SID.ir

حیوانخانه تحقیقاتی منتقل شده، در هر قفس ۵ سر موش قرار داده شد. در طول آزمایش‌ها آب و غذای کافی در اختیار موش‌ها قرار می‌گرفت و هر سه روز یکبار قفس موش‌ها تمیز می‌شد. دمای در حیوانخانه بین۳ ± ۲۲ درجه سانتی‌گراد 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 می‌شد. 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 مهاری (غیر فعال)، مدل Step-Through، از جعبه‌ای تشکیل شده که به وسیله دیواره ای به دو قسمت با اندازه یکسان (با ابعاد ۲۰×۲۰×۳۰ سانتی‌متر) تقسیم می شود. درون دیواره بین دو قسمت درب کشویی به ابعاد ۹× ۷ سانتی متر تعبیه شده است که می‌توان 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 می‌شود. بخش دیگر دستگاه سیاه رنگ است در کف دارای میله‌های فولادی با فاصله یک سانتی متر بوده، که این میله‌ها توسط سیم رابطی به دستگاه تحریک کننده متصل می شوند وبه 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 آزمایش‌ها 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 ۷/٤ رسید . 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 آکومبنس: موش های صحرایی توسط تزریق کتامین هیدروکلراید (۵۰ mg/kg) بعلاوه زیلزین (٤ 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 آکومبنس برابر (۱+ = AP ، 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.

آزمون‌های رفتاری: روش اجتنابی مهاری برای بررسی حافظه در موشهای صحرایی در دو روز متوالی هم انجام می‌شود. 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 می‌شود.

مرحله آموزش: در روش اجتنابی مهاری مدل Step-through، هر حیوان به آرامی در بخش روشن دستگاه قرار می‌گیرد، 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

Archive of SID

www.SID.ir

قفس برگردانده می شود. موش هایی که در این مرحله بیشتر از ۱۲۰ ثانیه در ورود به بخش تاریک تأخیر داشته باشند از ادامه آزمایش حذف می شدند. پس از گذشت ۳۰ دقیقه این حیوان دوباره به بخش سفید دستگاه منتقل شده و بعد از ۵ ثانیه درب کشویی باز می شد تا حیوان وارد بخش تاریک شود. با ورود حیوان به بخش تاریک، درب کشویی پشت سرحیوان بسته شده، حیوان تحریک الکتریکی با شدت یک میلی آمپر و به مدت ۳ ثانیه ، که توسط دستگاه تحریک کننده به میله های فولادی کف بخش تاریک منتقل می شود ، را دریافت می کرد. ۲۰ ثانیه پس از پایان تحریک حیوان از دستگاه خارج شده، به قفس مربوطه منتقل می شود. 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 می گردد. تاخیر ۱۲۰ ثانیه ای در ورود به بخش سیاه دستگاه که به عنوان یادگیری موفق برای حیوان ثبت می گردد، حیوان از دستگاه خارج شده ، بلافاصله تزریق پس از آموزش را دریافت می کند. در صورت تأخیر کمتر از۱۲۰ 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 ۲٤ 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 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 می شود.

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 آکومبنس و جلوگیری از آسیب آن استفاده شد. این سر سوزن به کت دان تیوپ نوزاد (شماره ٤) متصل می باشد. برای تزریق از سرنگ هامیلتون ۲ میکرولیتر استفاده شد. در مرحله تزریق پس از برداشتن سیم داخل کانول راهنما، سر سوزن G۲۷ دندانپزشکی در داخل کانول راهنما G ۲۲ قرار داده شده ، در هر کانول ۰/۳ میکرولیتر دارو در مدت ۹۰-٦۰ 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 می شود . مجموع حجم تزریق درون مغزی به هر موش ۰/٦ میکرولیتر است . در طول تزریق به حیوان اجازه داده می شود بدون هیچ استرسی آزادانه حرکت کند.

بافت شناسی: پس از کشتن حیوان ها 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 برش هایی 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 کانول ها در نواحی مورد نظر اطلاعات حاصل از حیوان مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

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

Archive of SID

www.SID.ir

به عنوان ملاک حافظه در نظر گرفته شده ، نمره هر گروه به صورت میانگین و انحراف معیار استاندارد (Mean ± 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 گروه‌های 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 افزارSPSS و رسم نمودارها از نرم افزار Sigma Plot استفاده شد.

تیمارهای دارویی و آزمایشهای انجام شده

آزمایش اول ـ بررسی اثر مورفین و نیکوتین بر حافظه تخریب شده با مورفین: در این آزمایش دوازده گروه حیوان بکار رفت، تمامی گروه‌ها بلافاصله بعد از آموزش مورفین (۷/۵ میلی‌گرم برکیلوگرم) دریافت کردند. در روز آزمون چهار گروه اول مقادیر مختلف مورفین (۰، ۲/۵، ۵، ۷/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، چهار گروه دوم مقادیر مختلف نیکوتین (۰، ۰/۱ ، ۰/۲، ۰/٤ میلی‌گرم برکیلوگرم) و چهار گروه باقیمانده مقادیر مختلف مورفین (۰، ۰/۱، ۰/۲، ۰/٤ میلی‌گرم برکیلوگرم) را همراه با دوز غیرمؤثر مورفین (۲/۵ میلی گرم برکیلوگرم) دریافت داشتند .

آزمایش دوم ـ 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 سالین 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 آکومبنس دریافت داشتند. چهار گروه باقیمانده در روز آموزش مورفین (۷/۵ میلی‌گرم برکیلوگرم) را به صورت درون صفاقی دریافت کردند ، در روز آزمون این چهار گروه ۳۰ دقیقه قبل از تست نیکوتین (۰/٤ میلی‌گرم برکیلوگرم) و ۵ دقیقه قبل از تست مقادیر مختلف سولپیراید (۰، ۰/۱، ۰/۲۵، ۰/۵ میکروگرم برموش) را به صورت درون مغزی در داخل هسته آکومبنس دریافت داشتند.

نتایج

مقطع بافتی مربوط به پوسته هسته آکومبنس 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 ـ 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 میلی‌گرم برکیلوگرم) قبل از آزمون قادر به بهبود معنی دار حافظه تخریب شده با مورفین روز آموزش می باشد[۰/۰۰۱ > p ،۱۹/٤۳ = (۳، ۲۸) F]. تزریق نیکوتین (۰/٤ 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 می‌شود [۰/۰۰۱ > p ،۱۷/۳۱ = (۳، ۲۸) F]. 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 ، ۰/٤ میلی گرم برکیلوگرم) می توانند به طور معنی دار حافظه را اصلاح نمایند [۰/۰۰۱ > p ،۲۵/۷۸ = (۳، ۲۸) F].

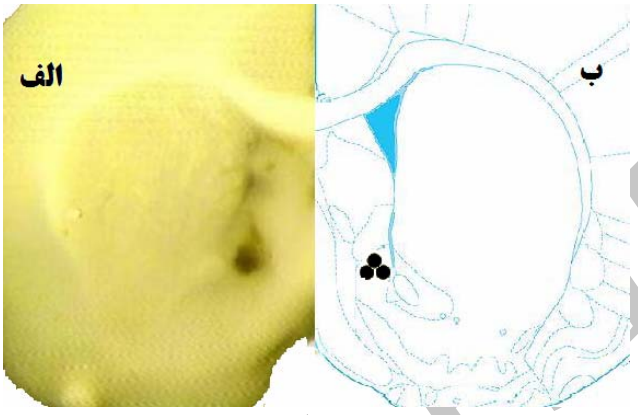
آزمایش دوم ـ نتایج تزریق درون مغزی سولپیراید قبل از آزمون بر روی یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با مورفین

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 سالین دریافت کرده اند، اثری بر روی حافظه اجتنابی مهاری ندارد [۰/۰۵ < p

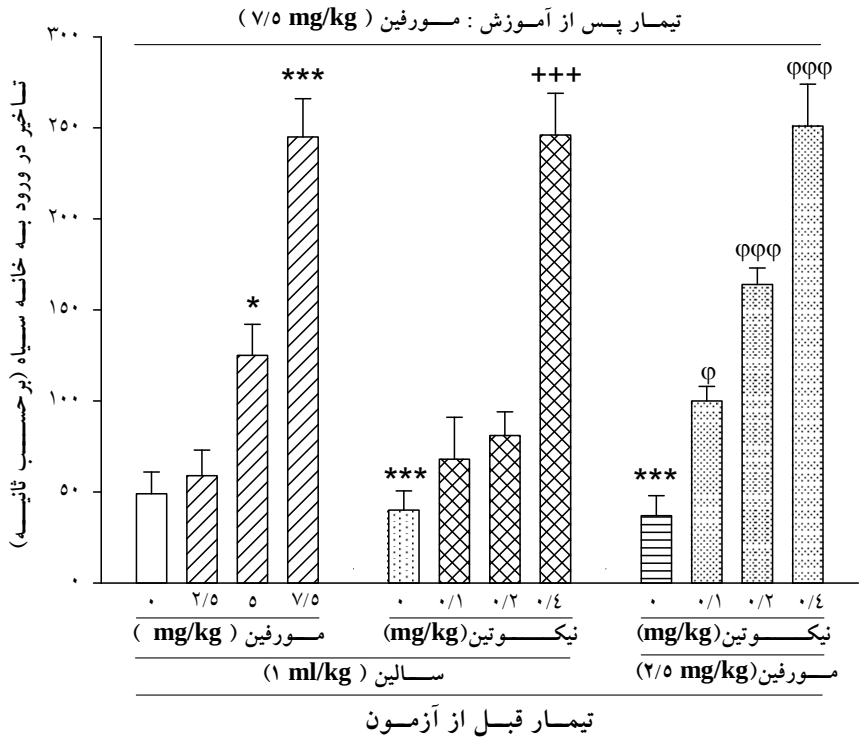
Archive of SID

www.SID.ir

۱/۹۱، F (۳، ۲۸) =]. اما تزریق همین مقادیر غیر مؤثر سولپیراید (۰/۲۵، ۰/۵ میکرو گرم برموش) به همراه دوز مؤثر نیکوتین (۰/٤ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت معنی داری جلوی اثر اصلاحی نیکوتین بر روی حافظه تخریب شده با مورفین روز آموزش را می‌گیرد [p< ۰/۰۰۱ ، F(۳، ۲۸) = ۲۲۳/۵۲].

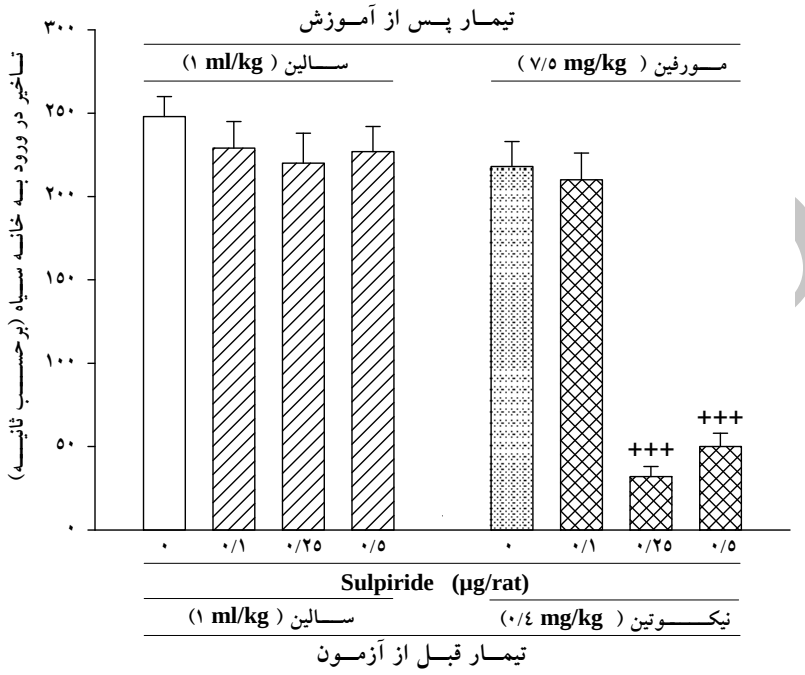


شکل ۱- عکس مقطع بافتی مربوط به کانول گذاری در پوسته هسته آکومبنس (الف) وشکل شماتیک برگرفته از اطلس پاکسینوس که محل پوسته هسته آکومبنس در آن مشخص شده است (ب)



شکل ۲- اثر نیکوتین و مورفین بر حافظه اجتنابی تخریب شده با مورفین . ۰/۰۵ >P * ، ۰/۰۰۱ >P *** در مقایسه با گروه سالین/ سالین ، ۰/۰۵ >P + ، ۰/۰۰۱ >P +++ در مقایسه با مورفین / سالین و ۰/۰۵ >P φ ، ۰/۰۰۱ >P φφφ در مقایسه با مورفین / مورفین می باشد.

www.SID.ir



شکل ٤- اثر سولپیراید بر حافظه اجتنابی مهاری و میانجی گری اثر بهبود بخش نیکوتین بر فراموشی القاء شده با مورفین . P< ۰/۰۵ + ، P <۰/۰۰۱ +++ در مقایسه با مورفین / نیکوتین می باشد.

بحث

همسو با مطالعات پیشین نتایج این تحقیق نیز نشان می-دهد که تزریق پس از آموزش مورفین باعث تخریب حافظه اجتنابی مهاری می‌شود. همچنین نتایج ما نشان می دهد که تزریق پیش از آزمون مورفین به حیواناتی که در روز آموزش نیز مورفین دریافت کرده اند 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 می دهد 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 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 غیرمؤثر نیکوتین به همراه مقدار غیر مؤثر مورفین که هیچ کدام به تنهایی در روز آزمون قادر به اصلاح حافظه تخریب شده با مورفین نمی-باشند، به صورت سینرژیک باعث بازگشت حافظه در روز آزمون می شوند. با توجه به اینکه اصلی ترین ویژگی مشترک مورفین و نیکوتین فعال شدن مسیر دوپامینی مزولیمبیک می‌باشد [۱۲]. این احتمال مطرح می‌گردد که

Archive
www.SID.ir

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 [٤, ١٥]، 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 [٢٢]. تزریق موضعی نیکوتین به داخل VTA یا هسته آکومبنس نیز، آزادسازی دوپامین در هسته آکومبنس را افزایش می‌دهد [٥]. افزایش رهایش دوپامین در هسته آکومبنس بدنبال تزریق موضعی نیکوتین، بطور عمده ناشی از تحریک مستقیم گیرنده‌های نیکوتینی بر روی پایانه های 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 [١٧] .

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 [٢٦]. بعلاوه حافظه تخریب شده توسط تزریق پس از آموزش مورفین در مدل یادگیری اجتنابی مهاری توسط آگونیست گیرنده های دوپامینی D2 بلوک می‌گردد [٣]. 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 می گیرد[٢٤]. 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، می بایست 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 [٧]، بنابراین می بایست 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.

Archive of SID
www.SID.ir

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 harmane-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 Rafsenjan 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 engogenous 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'abbed 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 α1-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

Archive of SID

www.SID.ir

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*.
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.

Archive of SID

www.SID.ir