



Involvement of central amygdala muscarinic receptors in morphine-induced amnesia in rat

Lotfollah Khajehpour^{1,2}, Ameneh Rezayof^{2*}, Mohammad Reza Zarrindast³

1. Department of Biology, College of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

2. Department of Animal Biology, School of Biology, College of Science, University of Tehran, Tehran, Iran

3. Department of Pharmacology, School of medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 22 Nov 2009

Accepted: 13 Jan 2010

Abstract

Introduction: Learning and memory processes result from interaction of neurotransmitter systems in various brain regions such as amygdala and hippocampus. Considering that morphine induces memory impairment, in the current study, we examined the possible role of cholinergic muscarinic receptors of the central amygdala (CeA) on the morphine-induced amnesia in adult male Wistar rats.

Methods: A week after the surgery during which cannulas were bilaterally implanted in the CeA nuclei of the amygdala, the animals were trained and tested in a step-through type passive avoidance task with 24 h interval time. Memory retrieval was measured by step-through latency, which is the latency to enter into the black shocked compartment.

Results: Post-training subcutaneous (s.c.) administration of morphine (5 and 7.5 mg/kg) dose-dependently decreased the step-through latency, suggesting morphine-induced amnesia. Post-training intra-CeA microinjection of pilocarpine (1 and 1.5 µg/rat), muscarinic receptor agonist, significantly decreased the amnesia induced by post-training administration of morphine (7.5 mg/kg s.c.). Moreover, post-training co-administration of a muscarinic receptor antagonist, scopolamine (0.5 and 0.6 µg/rat, intra-CeA) with an ineffective dose of morphine (2.5 mg/kg) inhibited memory retrieval. Post-training administration of the lower doses of scopolamine also reversed the influence of pilocarpine on the morphine response. It is important to note that post-training intra-CeA administration of the same doses of pilocarpine or scopolamine by itself had no effect on memory retrieval.

Conclusion: The present results suggest that cholinergic muscarinic receptors of the central amygdala nuclei may play an important role in morphine-induced amnesia.

Key words: Morphine, Passive avoidance learning, muscarinic receptors, amygdala, Rat(s).

* Corresponding author e-mail: rezayof@khayam.ut.ac.ir

دخالت گیرنده های موسکارینی آمیگدال مرکزی در فراموشی ناشی از مورفین در موش بزرگ آزمایشگاهی

لطف اله خواجه پور^۱، آمنه رضایوف^{۲*}، محمد رضا زرین دست^۳

۱. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲. گروه زیست شناسی جانوری، دانشکده زیست شناسی، پردیس علوم، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۳. گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

پذیرش: ۲۳ دی ۸۸

دریافت: ۱ آذر ۸۸

چکیده

مقدمه: پردازش اطلاعات در فرآیند یادگیری و حافظه، نتیجه تداخل سیستم های نوروترانسمیتری در نواحی مختلف مغزبویژه، هیپوکامپ و آمیگدال می باشد. با توجه به اینکه مورفین باعث القا فراموشی می شود، در تحقیق حاضر، نقش احتمالی گیرنده های کولینرژیک موسکارینی آمیگدال مرکزی در فراموشی ناشی از مورفین در موش بزرگ آزمایشگاهی نر نژاد ویستار مورد بررسی قرار گرفته است.

روش ها: یک هفته بعد از جراحی و کانول گذاری بصورت دو طرفه در هسته های مرکزی آمیگدال، حیوانات جهت یادگیری اجتنابی غیر فعال با استفاده از دستگاه *step-through*، با یک فاصله زمانی ۲۴ ساعته، مورد آموزش و آزمون قرار گرفتند. مدت زمان تاخیر ورود حیوان به بخش تاریک شوک دهنده دستگاه به عنوان ملاکی برای سنجش بیادآوری حافظه مورد استفاده قرار گرفته است.

یافته ها: تزریق زیر جلدی مورفین (۵، ۷/۵ mg/kg) پس از آموزش به صورت وابسته به دوز، موجب تخریب حافظه و ایجاد فراموشی گردید. تزریق مقادیر ۱/۵ و ۱ پیلوکارپین، آگونیست گیرنده های موسکارینی استیل کولین، به درون آمیگدال مرکزی (CeA)، قبل از استعمال مورفین (۷/۵ mg/kg, s.c.)، مانع از القاء فراموشی ناشی از مورفین گردید. در حالیکه، تزریق پیش از آموزش اسکوپولامین (۰/۵، ۰/۶ μg/rat, intra-CeA)، آنتاگونیست گیرنده های موسکارینی همراه با یک مقدار بی اثر مورفین (۲/۵ mg/kg, s.c.) بیادآوری حافظه را مهار کرد. همچنین مصرف پیش از آموزش مقادیر کمتر اسکوپولامین (۰/۲، ۰/۳ μg/rat, intra-CeA) اثر پیلوکارپین را بر واکنش مورفین معکوس نمود. قابل توجه است که تزریق همان مقادیر پیلوکارپین یا اسکوپولامین به تنهایی اثری بر حافظه نداشتند.

نتیجه گیری: بر اساس نتایج تحقیق حاضر، به نظر می رسد که گیرنده های موسکارینی کولینرژیک هسته های آمیگدال مرکزی ممکن است در اثرات مورفین در تخریب حافظه و ایجاد فراموشی دخالت داشته باشند.

واژه های کلیدی: مورفین، حافظه اجتنابی غیر فعال، گیرنده های موسکارینی، آمیگدال، موش بزرگ آزمایشگاهی

مقدمه

سیستم اوبیوئیدی می تواند حافظه و یادگیری را در حیوانات آزمایشگاهی تحت تاثیر قرار دهند [۵۴]. یافته های حاصل از تجربیات پیشین ما، نیز حاکی از این است که، اثرات متفاوت مورفین، آگونیست اوبیوئیدی، بر این فرآیندها، به مقدار و زمان تجویز دارو و مدل بررسی حافظه در حیوانات وابسته است [۲۸، ۴۹، ۶۱، ۶۲]. بررسی حافظه بلند مدت در مطالعات

مطالعات نشان داده اند که، آگونیست ها و آنتاگونیست های

rezayof@khayam.ut.ac.ir

www.phypha.ir/ppj

* نویسنده مسئول مکاتبات:

وبگاه مجله:

های هیجانی دارد، بطوریکه فعال سازی آن توسط محرک های هیجانی، ذخیره شدن حافظه را با دخالت نواحی دیگر مغز، تنظیم می کند [۳۱].

پدیده شکل پذیری سیناپسی در مدارهای نورونی آمیگدال در فرآیند حافظه های هیجانی و یادگیری پاداش و تنبیه دخالت دارد [۱۳].

یافته ها حاکی از آن است، که سیستم کولینرژیک در پردازش اطلاعات حافظه آمیگدالی دخالت دارد، و تزریق مستقیم آگونیست ها و آنتاگونیست های آن به داخل آمیگدال به ترتیب تشکیل حافظه را تقویت و تضعیف می کند [۴۲].

همچنین، گیرنده های موسکاربینی نقش مهمی در القاء تقویت طولانی مدت در آمیگدال دارد [۵۹]، و فعالیت این گیرنده ها یکی از مکانیسم هایی است که عمل آمیگدال را در فرآیند حافظه میانجیگری می کند [۵۰]، بطوریکه تقویت حافظه ایجاد شده، با استعمال محیطی آگونیست های گیرنده های موسکاربینی، توسط تزریق آنتاگونیست های آن ها به درون آمیگدال، مهار شده است [۵۷]. از طرف دیگر وجود گیرنده های اوپیوئیدی در این هسته ها در مطالعات مختلفی گزارش شده است [۴۶]. بگونه ای که تزریق مورفین به داخل آمیگدال، حافظه مربوط به یادگیری اجتنابی را کاهش داده است [۴۳].

آمیگدال مرکزی یک بخش کلیدی از آمیگدال در بیان هیجانات، حافظه وابسته به پاداش و ایجاد ارتباط بین محرکهای محیطی و حالات رفتاری است [۲۶، ۲۷، ۴۸]. این بخش از آمیگدال، اعمال خود را در ارتباط گسترده ای با سایر نواحی درون آمیگدالی، مانند هسته های قاعده ای-جانبی و خارج آمیگدالی از قبیل هیپوکامپ، استریاتوم و مغز پیشین قاعده ای و از طریق تارهای عصبی ورودی و خروجی متعددی، انجام می دهد.

بعنوان مثال، آمیگدال مرکزی در تنظیم پردازش نورونی حافظه در بخش قاعده ای-جانبی آمیگدال، که دارای توزیع گسترده ای از گیرنده های کولینرژیک است، دخالت دارد [۵۲]. در تحقیق حاضر، دخالت گیرنده های کولینرژیک موسکاربینی استیل کولین، موجود در آمیگدال مرکزی (CeA)، در اثرات تخریبی تزریق حاد مورفین بر حافظه طولانی مدت با استفاده از روش اجتنابی (احترازی) در موش بزرگ آزمایشگاهی، مورد بررسی قرار گرفته است.

فارماکولوژیک نشان داده است که، تزریق پیش یا پس از آموزش مورفین، حافظه اجتنابی غیرفعال را تخریب نموده و موجب فراموشی در حیوانات می گردد [۲۱، ۲۳، ۳۷]. از طرف دیگر، تزریق نالوکسان، آنتاگونیست اوپیوئیدی، حافظه را افزایش داده و مانع از القاء فراموشی توسط مورفین می گردد [۳۰]. به نظر می رسد که اثرات متفاوت مورفین بر مراحل تشکیل حافظه، توسط سیستم های نوروترانسمیتری در نواحی مختلف مغز میانجیگری شود. بعضی شواهد موجود، دخالت سیستم های آدرنرژیک، گلوتاماترژیک و کولینرژیک را تأیید می کنند [۲۸].

دخالت سیستم کولینرژیک مرکزی در فرآیند یادگیری و حافظه اولین بار در سال ۱۹۷۳ مشخص گردید [۶۰]. مطالعات بعدی نقش استیل کولین در شکل گیری اعمال شناختی، از قبیل یادگیری و حافظه، را نشان می دهند [۱۴]، بطوریکه فرضیه کولینرژیک بیماری آلزایمر، که با کاهش حافظه همراه است، براساس چنین مطالعاتی ارائه گردیده است. در این بیماری فعالیت سیستم کولینرژیک مرکزی به شدت کاهش مییابد [۱۴].

مطالعات نوروفارماکولوژیک نشان می دهد که کاهش سطوح استیل کولین مغز حافظه را کاهش، و افزایش آن در نواحی مختلف مغز، حافظه را افزایش می دهد [۱، ۳۶]. اثرات استیل کولین بر حافظه توسط دو نوع گیرنده ی موسکاربینی و نیکوتینی میانجیگری می گردد [۱۸]. از طرف دیگر، رابطه بین دو سیستم کولینرژیک و اوپیوئیدرژیک در تشکیل حافظه نیز گزارش شده است [۴۸].

مطالعات ایمونوهیستوشیمی، با استفاده از آنتی بادی مونوکلونال، توزیع گسترده گیرنده های موسکاربینی استیل کولین را در بعضی نواحی مغزی مانند هیپوکامپ، آمیگدال و بویژه آمیگدال مرکزی را نشان می دهد [۵۶]. از آنجائیکه تزریق محیطی و مرکزی آگونیستهای گیرنده های موسکاربینی حافظه را بهبود می بخشند و آنتاگونیستهای آنها حافظه را در انواع مختلف یادگیری کاهش می دهند [۲۴]، دخالت مکانیسم های گیرنده های موسکاربینی مرکزی را، در تشکیل حافظه پیشنهاد می دهند.

آمیگدال مجموعه ای متشکل از چند هسته است که درلوب گیجگاهی میانی قرار دارد و توسط مسیرهای ویژه با نواحی دیگر مغزی مرتبط است [۴۱]. آمیگدال نقش مهمی در حافظه-

مواد و روش ها

در این پژوهش، موش بزرگ آزمایشگاهی نر از نژاد ویستار (تهیه شده از انستیتو پاستور ایران) با محدوده وزنی ۲۷۰-۲۲۰ گرم مورد استفاده قرار گرفت. این حیوانات بصورت گروه های چهارتایی نگهداری و برای عادت کردن به محیط جدید حدود یک هفته قبل از شروع آزمایش، به حیوانخانه منتقل می شدند. محل نگهداری حیوانات دارای شرایط مناسب از لحاظ دوره روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته، دمای 22 ± 2 درجه سانتیگراد و آب و غذای کافی بود. آزمایش ها در زمان معینی (ساعت ۱۴-۸) از روز انجام می گرفت. هفت حیوان در هر گروه تجربی قرار داشت و هر حیوان فقط یک بار آزمایش می شد.

برای انجام جراحی و کانول گذاری ابتدا حیوانات براساس وزن با تزریق داخل صفاقی مخلوطی از کتامین (50 mg/kg) و زایلین (5 mg/kg) بیهوش شده، بعد از تراشیدن موها، سر حیوان در دستگاه استرنوتاکس قرار می گرفت. میله دهانی دستگاه را در حد $3/3$ میلی متر زیر صفر افقی قرار داده، تا سطح جمجمه حیوان به صورت افقی قرار گیرد. با ایجاد شکافی (حدود $1/5$ سانتی متری) در پوست سر حیوان، بافت های سطحی تمیز می گردید، تا نقاط برگما و لامبدا در سطح جمجمه کاملاً مشخص گردد. بر اساس اطلس پاکسینوس [۴۰] مختصات ناحیه آمیگدال مرکزی ($2/2$ میلی متر به سمت عقب از برگما، $4/2$ میلی متر در طرفین شکاف ساژیتال و $8/1$ میلی متر بطرف پایین از سطح جمجمه) را مشخص کرده و توسط مته دندانپزشکی جمجمه سوراخ می گردید. کانول های راهنما (به طول ۱۳ میلی متر، تهیه شده از سرسوزن شماره ۲۲) را بصورت دو طرفه در درون جمجمه قرار داده، با سیمان دندانپزشکی تثبیت می گردید. برای جلوگیری از بسته شدن کانول راهنما قبل از تزریق، سر سوزن های دندانپزشکی به شماره ۲۷ که به اندازه طول کانول راهنما بریده می شد، در داخل آن قرار می گرفت.

پس از یک هفته دوره بهبودی، حیوانات برای تزریق و آزمایش رفتاری به کار گرفته می شدند. تزریق درون مغزی داروها، با استفاده از سرنگ هامیلتون ۲ میکرولیتری انجام می گرفت. یک کانول تزریق (تهیه شده از سر سوزن شماره ۲۷، به طول ۱۵ میلی متر)، که توسط یک لوله پلی اتیلن به سرنگ

مرتبط بود، در درون کانول راهنما قرار می گرفت و در مدت ۶۰ ثانیه، مقدار $0/5$ میکرولیتر محلول تزریقی در هر طرف (۱ میکرو لیتر در هر حیوان) تزریق می گردید. برای انتشار کامل دارو به داخل ناحیه آمیگدال مرکزی، کانول تزریق با تاخیر ۶۰ ثانیه ای پس از تزریق خارج می شد.

در پایان آزمایش برای اطمینان از درستی مختصات محل جراحی و تزریق، مقدار ۱ میکرولیتر از محلول ۱ درصد محلول آبی متیل به صورت دو طرفه تزریق شده، سپس مغز حیوان از جمجمه خارج و در محلول فرمالین ۱۰٪ به مدت ۱۰ روز ثابت می شد. محل های کانول گذاری (ناحیه CeA)، با تطبیق مقاطع تهیه شده از مغز با اطلس پاکسینوس تأیید می گردید. داده های حیواناتی که محل کانول گذاری آن ها خارج از آمیگدال مرکزی بود، مورد محاسبه آماری قرار نمی گرفت. دستگاه سنجش حافظه (Step-Through) از جنس پلکسی گلاس و از دو بخش تاریک (سیاه) و روشن (سفید) هر کدام به ابعاد $30 \times 20 \times 20$ سانتی متر تشکیل شده است. این دو بخش توسط یک درب گیوتینی (9×7 سانتی متر)، واقع در دیواره میانی، با یکدیگر ارتباط دارند. در کف بخش تاریک، نیز میله های فولادی (به قطر $2/5$ میلی متر و با فواصل ۱ سانتی متر) تعبیه شده است، که توسط یک کابل ارتباطی به استیمولاتور متصل است. این دستگاه یک جریان الکتریکی (به مدت ۳ ثانیه و شدت ۱ میلی آمپر) را در این میله ها رها می کند، که موجب وارد شدن شوک الکتریکی به دست و پای حیوان می گردد.

یادگیری اجتنابی غیر فعال (مهارتی) به روش Step through برای بررسی حافظه طولانی مدت در موش بزرگ آزمایشگاهی، در دو روز پشت سر هم انجام می گردد. روز اول یا روز آموزش، شامل آموزش دادن حیوان در دستگاه می باشد و روز دوم یا روز آزمون، شامل بررسی یا سنجش میزان حافظه حیوانات آموزش دیده است. در روز آموزش، هر حیوان در درون بخش روشن دستگاه قرار می گیرد و پس از ۵ ثانیه درب گیوتینی باز می شود. مدت زمان درنگ حیوان برای ورود به بخش تاریک دستگاه، ثبت می گردد. با توجه به تمایل ذاتی موشها برای ورود به بخش تاریک، معمولاً بعد از مدت زمان کوتاهی، حیوان وارد بخش تاریک دستگاه می شود. در آزمایشهای ما، حیواناتی که بیش از ۱۰۰ ثانیه از داخل شدن به درون بخش تاریک، خودداری می کردند، از ادامه آزمایش ها

ایران) بصورت درون مغزی، به صورت محلول درسالین (۰/۹ درصد) و در حجم نهائی $1 \mu\text{l}/\text{rat}$ تزریق می شد. در تحقیق حاضر چهار آزمایش انجام گردید: در آزمایش اول، برای بررسی اثر تزریق پس از آموزش مورفین بر یادگیری اجتنابی غیرفعال چهار گروه از حیوانات مورد استفاده قرار گرفتند. یک گروه، بلافاصله بعد از آموزش، سالین ($1 \text{ ml}/\text{kg}$, s.c.) و سه گروه مورفین ($2/5$, 5 , $7/5 \text{ mg}/\text{kg}$, s.c.) دریافت کردند و ۲۴ ساعت بعد، بدون دریافت دارو مورد آزمون حافظه قرار گرفتند. در آزمایش دوم، اثر تزریق پس از آموزش پیلوکارپین درون آمیگدال مرکزی بر فراموشی ناشی از مورفین بررسی گردید. برای انجام این آزمایش هشت گروه حیوان در دو تیمار بکار گرفته شد: ۱- چهار گروه بلافاصله بعد از آموزش، پیلوکارپین (1 , $1/5$, 10 , $0/5 \mu\text{g}/\text{rat}$) به داخل هسته مرکزی آمیگدال (*intra-CeA*) و ۵ دقیقه بعد سالین ($1 \text{ ml}/\text{kg}$, s.c.) دریافت کردند. ۲- چهار گروه دیگر بعد از آموزش، پیلوکارپین (1 , $1/5$, 10 , $0/5 \mu\text{g}/\text{rat}$, *intra-CeA*) و پنج دقیقه بعد مورفین ($7/5 \text{ mg}/\text{kg}$, s.c.) دریافت کردند. هر دو تیمار ۲۴ ساعت بعد بدون دریافت هیچ تزریقی، مورد آزمون حافظه قرار گرفتند.

آزمایش سوم، برای بررسی اثر تزریق پس از آموزش اسکوپولامین در درون آمیگدال مرکزی بر فراموشی ناشی از مورفین، و با استفاده از هشت گروه حیوان در دو تیمار انجام گردید: ۱- چهار گروه در روز اول بعد از آموزش، اسکوپولامین (1 , $1/6$, $1/5$, $0/4 \mu\text{g}/\text{rat}$, *intra-CeA*) و پنج دقیقه بعد سالین دریافت کردند. در روز دوم بدون دریافت دارو یا سالین، حافظه آنها مورد ارزیابی قرار گرفت. ۲- چهار گروه دیگر بعد از آموزش ابتدا اسکوپولامین (1 , $1/6$, $1/5$, $0/4 \mu\text{g}/\text{rat}$, *intra-CeA*) و پنج دقیقه بعد مقدار کم اثر مورفین ($7/5 \text{ mg}/\text{kg}$, s.c.) را دریافت کردند و روز بعد بدون تزریق دارو در مرحله آزمون، مورد بررسی حافظه قرار گرفتند.

در آزمایش چهارم، اثر تزریق پس از آموزش اسکوپولامین و پیلوکارپین بصورت توأم در درون آمیگدال مرکزی بر فراموشی ناشی از مورفین از ۶ گروه حیوان استفاده گردید: یک گروه بعد از آموزش، سالین ($1 \text{ ml}/\text{kg}$, s.c.) و پنج گروه باقیمانده همگی بصورت بعد از آموزش، مورفین ($7/5 \text{ mg}/\text{kg}$, s.c.) دریافت کردند. یکی از این پنج گروه، داروی دیگری دریافت

حذف می گردیدند. بعد از ورود حیوان به بخش تاریک (هر چهار پای حیوان باید وارد شود)، درب گیوتینی بسته می شود و پس از حدود ۲۰ ثانیه حیوان، که با دستگاه آشنا شده است، به قفس خود برگردانده می شود. برای بار دوم، ۳۰ دقیقه بعد حیوان مجدداً درون بخش روشن قرار می گیرد و بعد از ۵ ثانیه درب گیوتینی باز شده، مدت زمان تأخیر ورود حیوان به بخش تاریک ثبت می گردد.

بلافاصله پس از ورود کامل حیوان به بخش تاریک، درب گیوتینی را بسته و توسط استیمولاتور، تحریک الکتریکی به مدت ۳ ثانیه به پاهای حیوان وارد می گردد. با توجه به اینکه در این حالت سقف این بخش بسته است، موش ناگزیر نمی تواند از شوک الکتریکی اجتناب کند. ۲۰ ثانیه بعد از شوک، حیوان به قفس نگهداری، منتقل می گردد. دو دقیقه بعد مجدداً حیوان را در بخش روشن قرار داده و با همان روش میزان تاخیرش ثبت می گردد. اگر تأخیر حیوان بیشتر از ۱۲۰ ثانیه باشد، نشان دهنده این است که، یادگیری اجتنابی غیر فعال در موش شکل گرفته است. بعد از دریافت سالین یا دارو (تیمار بعد از آزمون)، حیوان به قفس خود منتقل می شود.

مرحله آزمون برای سنجش حافظه طولانی مدت، ۲۴ ساعت بعد از جلسه آموزش انجام می گیرد. به این ترتیب که هر موش بصورت جداگانه در بخش روشن دستگاه قرار داده و پس از ۵ ثانیه درب گیوتینی باز می شود. مدت زمان تأخیر ورود حیوان به بخش تاریک ثبت می گردد. در این مرحله هیچ گونه شوک الکتریکی به حیوان وارد نمی شود. در این آزمایش ها سقف زمانی برای توقف موش در بخش روشن حداکثر ۳۰۰ ثانیه بود. حیوانی که به یاد می آورد که در بخش تاریک دستگاه، شوک دریافت کرده است، تمایلش را برای ورود به این بخش مهار نموده و از ورود به آن اجتناب می کند (روش اجتنابی مهارتی) و افزایش زمان تأخیر در ورود به بخش تاریک نشان دهنده بهبودی حافظه حیوان است، در حالیکه، کاهش تأخیر، از تضعیف حافظه خبر می دهد.

داروهای بیهوشی کتامین هیدروکلراید و زایلازین (شرکت آلفاسان هلند) به صورت درون صفاقی استعمال می گردید. سولفات مورفین (شرکت تماد ایران) بصورت زیر جلدی (mg/kg) درحجم نهائی $1 \text{ ml}/\text{kg}$ و اسکوپولامین (شرکت تاکریس انگلستان) و پیلوکارپین (تهیه شده از شرکت سینا دارو

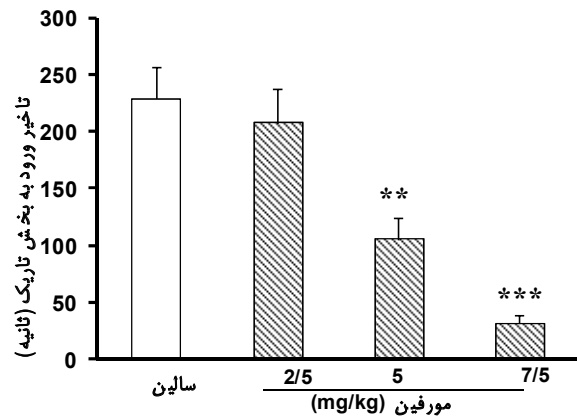
CeA در حضور یا عدم حضور مورفین بر حافظه اجتنابی غیرفعال را نشان می دهد. آنالیز واریانس دو طرفه، تفاوت معنی داری را بین گروههایی که بعد از آموزش، پیلوکارپین (*rat, intra-CeA*) $1/5 \mu g$ ، $1/5$ ، 1 ، 5 ، 10 ، به اضافه سالین (1 mg/kg) دریافت کرده اند و گروههایی که بعد از آموزش، همان مقادیر پیلوکارپین را با اضافه مورفین ($7/5 \text{ mg/kg}$) دریافت کرده اند، را نشان می دهد. [مقایسه درون گروهی: برای اثر تیمار: $F(1, 48) = 33/7, P < 0/001$ ؛ برای اثر مقدار دارو: $P < 0/05$ ؛ $F(3, 48) = 4/65, P < 0/001$ ؛ تداخل تیمار \times مقدار دارو: $F(3, 48) = 8/53, P < 0/001$].

همچنین آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که در حیواناتی که پیلوکارپین به اضافه سالین (1 ml/kg, s.c.) را بلافاصله بعد از آموزش دریافت کرده بودند، در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی داری [$F(3, 24) = 0/46, P > 0/05$] را در بیادآوری حافظه در روز آزمون نشان نداده اند (سمت چپ شکل ۲). در حالیکه بررسی آماری نشان داد که تزریق پیلوکارپین ($1/5 \mu g / rat, intra-CeA$) بعد از آموزش و قبل از تزریق مورفین ($7/5 \text{ mg/kg}$)، بطور معنی داری [$F(3, 24) = 20/49, P < 0/0001$] موجب افزایش تاخیر ورود حیوان به بخش تاریک دستگاه سنجش حافظه شده است (سمت راست شکل ۲).

همچنین آزمون تکمیلی توکی نشان داد که، بیشترین بهبودی حافظه با مقدار $1/5 \mu g / rat$ پیلوکارپین بدست آمده است ($P < 0/0001$).

اثرات تزریق پس از آموزش اسکوپولامین در درون ناحیه *CeA*، در حضور یا عدم حضور مورفین بر به خاطر آوری یک وظیفه یاد گرفته شده، در شکل ۳ نشان داده شده است. آنالیز واریانس دو طرفه، تفاوت معنی داری را بین گروههایی که بعد از آموزش اسکوپولامین ($1/6, 1/5, 1/4, 1/3 \mu g / rat, intra-CeA$) به اضافه سالین (1 ml/kg) دریافت کرده اند و گروههایی که بعد از آموزش همان مقادیر اسکوپولامین را قبل از مورفین ($7/5 \text{ mg/kg}$) دریافت کرده اند، نشان داده است.

[مقایسه درون گروهی: برای اثر تیمار: $P < 0/001, F(3, 48) = 13/59$ ؛ برای اثر مقدار دارو: $F(1, 48) = 10/78, P < 0/05$ ؛ و برای تداخل تیمار \times مقدار دارو: $F(3, 48) = 4/48, P < 0/001$].



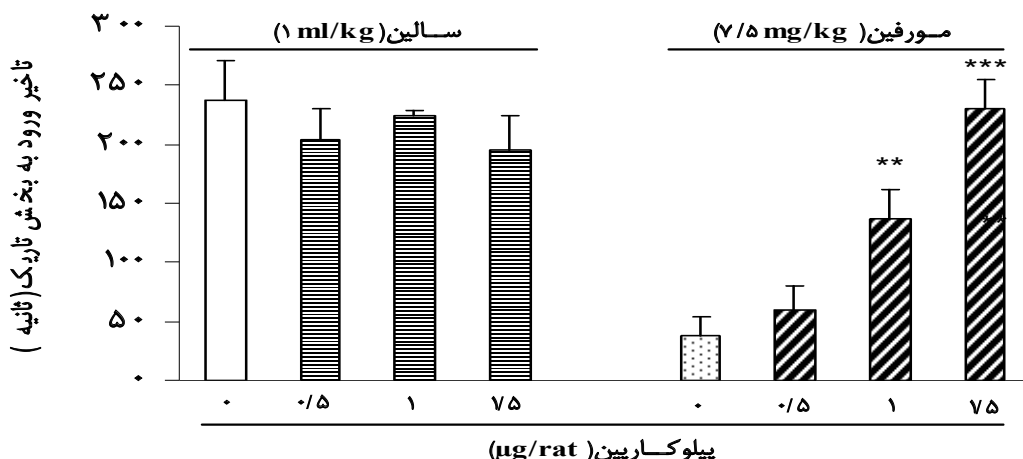
شکل ۱- اثر تزریق بعد از آموزش مورفین بر حافظه اجتنابی غیر فعال. حیوانات بلافاصله بعد از آموزش، سالین یا مقادیر مختلف مورفین دریافت کرده و ۲۴ ساعت بعد مورد آزمون حافظه قرار گرفتند. هر ستون نشان دهنده میانگین \pm انحراف معیار، $n = 7$. $P < 0/01$ ** و $P < 0/001$ *** در مقایسه با گروه سالین.

نکرد. چهار گروه دیگر ۵ دقیقه قبل از تزریق مورفین، پیلوکارپین ($1/5 \mu g / rat, intra-CeA$) و پنج دقیقه قبل از تزریق پیلوکارپین، به ترتیب مقادیر مختلف اسکوپولامین (*intra-CeA*) $3/2, 1/0, 1/0, 0$ ، دریافت کردند. ۲۴ ساعت بعد حافظه همه گروه ها بدون هیچ تزریقی، مورد آزمون قرار گرفت. به منظور تعیین تفاوت معنی داری بین گروههای مورد آزمایش، از روش آنالیز واریانس (*ANOVA*) یکطرفه و دو طرفه و همچنین آزمون تکمیلی توکی استفاده گردید. معیار معنی دار بودن تفاوت ها، $P < 0/05$ در نظر گرفته شد. محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار SPSS انجام گرفته است.

یافته ها

آنالیز واریانس یک طرفه نشان می دهد، که تزریق بعد از آموزش مورفین ($5, 7/5 \text{ mg/kg, s.c.}$) حافظه حیوان را در روز آزمون کاهش داده است [$F(3, 24) = 16/52, P < 0/001$]. آزمون تکمیلی توکی نشان داد، که بیشترین اثر توسط مقدار $7/5 \text{ mg/kg}$ مورفین ایجاد شده است (شکل ۱). به عبارت دیگر، تخریب یادگیری طولانی مدت حیوان توسط مورفین، موجب کاهش زمان تاخیر ورود حیوان به بخش تاریک در روز آزمون گردیده است، که فراموشی القاء شده توسط مورفین نامیده می شود.

شکل ۲، اثرات تزریق پس از آموزش پیلوکارپین درون ناحیه



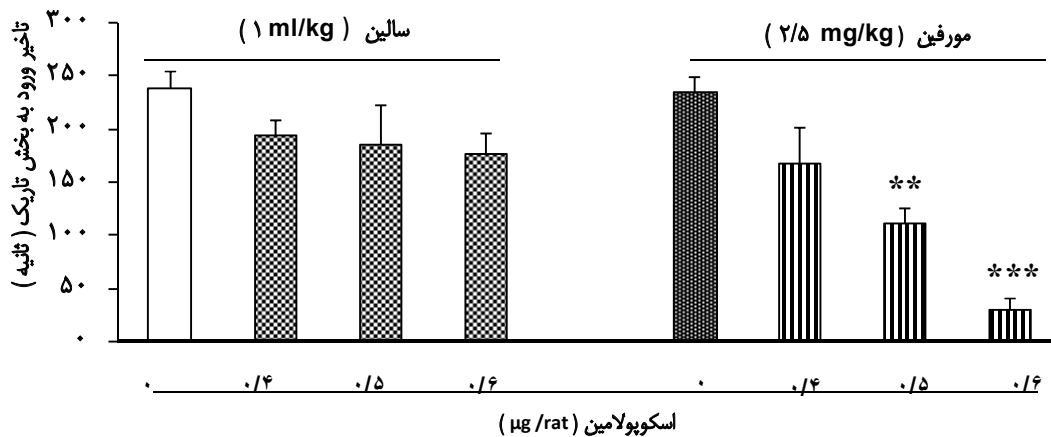
شکل ۲- اثر تزریق بعد از آموزش مقادیر مختلف پیلوکارپین بر بیادآوری حافظه در حضور و عدم حضور مورفین. حیوانات بعد از آموزش، مقادیر مختلف پیلوکارپین (Intra-CeA) به اضافه سالین یا مورفین دریافت کرده و حافظه آنها ۲۴ ساعت بعد، ارزیابی گردید. ستون ها نشان دهنده میانگین \pm انحراف معیار، $n=7$ ، $P < 0.001$ ، $**P < 0.01$ ، $***P < 0.001$ در مقایسه با گروه سالین/مورفین.

بحث

اثر اویپوئیدها بر اعمال شناختی بویژه در انواع مختلف حافظه و یادگیری، وجود سیستم های مختلف حافظه را نشان می دهد که تحت شرایط فیزیولوژیکی متفاوت فعال می گردند [۲، ۳، ۱۹، ۳۷]. دخالت مورفین و سیستم اویپوئیدی در تعدیل یادگیری و حافظه به ویژه در فراگیری و ذخیره حافظه، در مطالعات زیادی نشان داده شده است. در این مطالعات با استفاده از آگونیست ها و آنتاگونیست های گیرنده های اویپوئیدی که بصورت پیش از آموزش و یا پس از آموزش تزریق شده اند، فرآیند حافظه را در روش اجتنابی غیرفعال تحت تأثیر قرار می دهند [۳، ۶، ۳۳، ۴۳، ۴۴، ۵۵]. نتایج آزمایشهای حاضر نیز نشان می دهد که تزریق بعد از آموزش مورفین بطور وابسته به مقدار، حافظه اجتنابی غیرفعال را با استفاده از مدل *Step-Through*، تخریب می کند. این پدیده فراموشی ایجاد شده توسط مورفین نامیده می شود.

این نتایج گزارشهای پیشین را مبنی بر اینکه تزریق سیستمیک مورفین موجب کاهش حافظه می گردد، را تأیید می کنند [۲، ۵، ۱۹، ۵۳]. اثر تخریبی استعمال حاد اویپوئیدها، مانند مورفین و آندومورفین های ۱ و ۲، آگونیست های انتخابی گیرنده μ اویپوئیدی بر حافظه در برخی از مدل های یادگیری، توسط نالوکسان آنتاگونیست اویپوئیدی، برگشت داده شده است [۳۰]. در مقابل، بهبودی حافظه که با مصرف نالوکسان بدست

همچنین آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد حیواناتی که اسکوپولامین ($0.5, 0.6 \mu g / rat, intra-CeA$) به اضافه سالین ($1 ml / kg s.c.$) را بلافاصله بعد از آموزش دریافت کرده بودند، در مقایسه با گروه شاهد، تفاوت معنی داری [$F(3, 24) = 10.03$] را در بیادآوری حافظه در روز آزمون، نشان ندادند (سمت چپ شکل ۳). درحالیکه، مقادیر اسکوپولامین هنگامی که، بعد از آموزش و قبل از تزریق مقدار بی اثر مورفین ($2/5 mg / kg$)، تزریق گردیده است، بطور معنی داری [$F(3, 24) = 16.33, P < 0.001$] زمان تاخیر ورود حیوان به بخش تاریک دستگاه سنجش حافظه را افزایش داده است (سمت راست شکل ۳). این اثر در مقادیر 0.5 و $0.6 \mu g / rat$ اسکوپولامین معنی دار است و بیشترین اثر توسط مقدار $0.6 \mu g$ دارو حاصل شده است. در شکل ۴ اثرات تزریق بعد از آموزش مقادیر کم اسکوپولامین، ۵ دقیقه پیش از تزریق مقدار بالای پیلوکارپین به همراه $2/5 mg / kg$ از مورفین بر بیادآوری حافظه در روز آزمون نشان داده شده است. بررسی آماری با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه نشان می دهد که اسکوپولامین ($0.3, 0.2 \mu g / rat, intra-CeA$) از اثر مهارتی پیلوکارپین ($1/5 mg / rat$) بر فراموشی ناشی از تزریق مورفین ($2/5 mg / kg$) جلوگیری کرده، موجب فراموشی شده است [$F(5, 36) = 18.76, P < 0.0001$]. آزمون توکی نشان داد که مقدار $0.3 \mu g / rat$ اسکوپولامین بیشترین اثر را در برگشت دادن پاسخ پیلوکارپین بر بیادآوری حافظه دارد ($P < 0.0001$).



شکل ۳- اثر تزریق بعد از آموزش مقادیر مختلف اسکوپولامین بر بیادآوری حافظه درحضور و عدم حضور مورفین. حیوانات بعد از آموزش، مقادیر مختلف اسکوپولامین (intra-CeA) را به همراه سالین یا مورفین دریافت کرده و ۲۴ ساعت بعد، حافظه آنها ارزیابی گردید. هر ستون نشان دهنده میانگین \pm انحراف معیار، $n=7$ ، $**P<0/01$ ، $***P<0/001$ در مقایسه با سالین/مورفین.

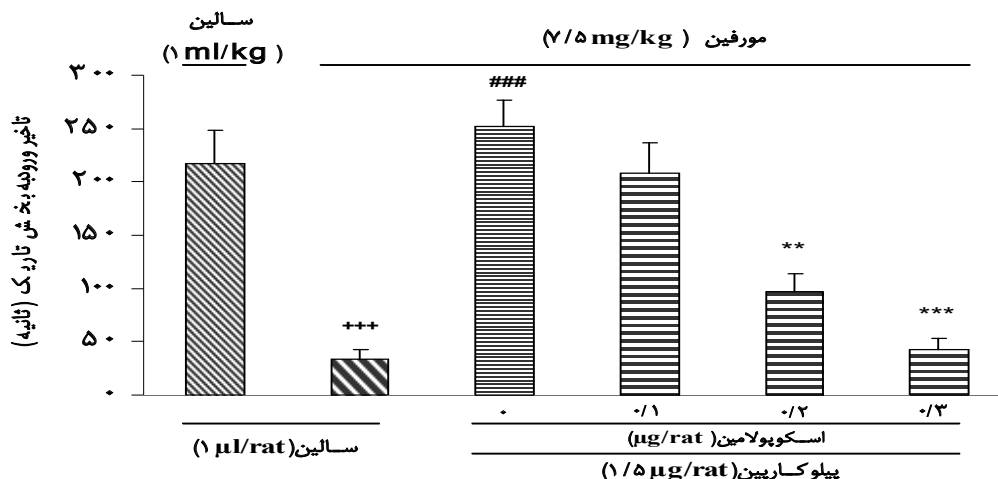
می رسد که سیستم کولینرژیک، در میانجیگری این عمل آمیگدال دخالت داشته باشد [۳۱]. مطالعات باروش هیستوشیمی، وجود تراکم زیاد گیرنده های موسکارینی را در هسته های آمیگدال، به ویژه آمیگدال مرکزی، نشان داده است [۵۶]. همچنین میانجیگری بعضی از پاسخهای رفتاری مورفین، توسط سیستم کولینرژیک مرکزی [۲۵] و تعدیل فعالیت سیستم های نورونی مؤثر درفرآیند یادگیری و حافظه، با فعال سازی آمیگدال، نیز گزارش شده است [۳۱، ۳۴، ۳۹].

بنابراین می توان پیشنهاد نمود، که برخی از پاسخ های شناختی مورفین، ممکن است توسط مکانیسم های کولینرژیک آمیگدال، میانجیگری شود. با توجه به این که آمیگدال دارای توزیع گسترده ای از گیرنده های اویپوئیدی بویژه گیرنده مو (μ) و همچنین گیرنده های موسکارینی می باشد، و از نواحی مؤثر در حافظه و یادگیری محسوب می گردد، لذا تحقیق حاضر، بررسی دخالت گیرنده های موسکارینی هسته مرکزی آمیگدال در اثر مورفین برحافظه و ایجاد فراموشی را مد نظر قرارداده است. نتایج بدست آمده در این تحقیق نشان می دهد، که ریز تزریق مقادیر مختلف پیلوکارپین، آگونیست غیر انتخابی گیرنده موسکارینی، بلافاصله بعد از آموزش به درون آمیگدال مرکزی و قبل از تزریق محیطی مورفین ($7/5mg/kg$)، مانع از آسیب حافظه و ایجاد فراموشی توسط مورفین در موش بزرگ آزمایشگاهی شده است. به همین روش، تزریق بعد از آموزش مقادیر مختلف اسکوپولامین، آنتاگونیست انتخابی گیرنده موسکارینی، به همراه یک مقدار بی اثر مورفین ($2/5 mg/kg$)،

آمده است، توسط آگونیست های اویپوئیدی تخریب می گردد [۵، ۱۶]. مورفین، حافظه کاری (فعال) را نیز تخریب می کند و مانع از یادگیری در ماز بازو شعاعی و ماز Y شکل در موش بزرگ آزمایشگاهی می گردد [۱۶، ۳۰، ۳۷].

مطالعات نشان داده اند که آگونیست های اویپوئیدی حافظه را به صورت وابسته به زمان و مقدار تضعیف می کنند [۳۳، ۶]. ایجاد فراموشی و تقویت حافظه، به ترتیب با تزریق درون آمیگدالی مورفین و نالوکسان نیز گزارش شده است [۴۳]. در تحقیق حاضر نیز، تزریق زیر پوستی مقادیر $7/5 mg/kg$ و $5 mg/kg$ مورفین بلافاصله بعد از آموزش، در موش بزرگ آزمایشگاهی حافظه را تخریب کرده که مطابق یافته های قبلی است. به نظر می رسد اثر مورفین بر حافظه توسط مکانیسم گیرنده ای مو (μ) اویپوئیدی در نواحی مختلف مغزی میانجیگری می شود [۱۹، ۶۳]. گرچه، مطالعات قبلی نشان می دهند که بعضی از سیستم های نوروترانسمیتری مانند آدرنرژیک [۱۵]، نیتریک اکساید [۲۹، ۴۷] و گلوتاماترژیک [۶۲]، در این اثر مورفین بر حافظه دخالت دارند، اما مکانیسم های مداخله کننده در آن به درستی شناخته نشده است.

از طرف دیگر شواهد بسیاری وجود دارد که نشان می دهد، دخالت سیستم کولینرژیک مرکزی در فرآیندهای یادگیری و حافظه توسط هر دو نوع گیرنده کولینرژیک نیکوتینی و موسکارینی میانجیگری می شود [۴، ۴۵]. بعضی مطالعات نشان داده اند، که در هنگام یادگیری میزان استیل کولین در آمیگدال، که نقش مهمی در تثبیت حافظه دارد، افزایش می یابد. به نظر



شکل ۴- اثر مهارى اسکوپولامین بر پاسخ ناشی از پیلوکارپین و مورفین بر بیادآوری حافظه. حیوانات بعد از آموزش، حامل دارو یا سالیین (1 µl /rat) یا مقادیر مختلف اسکوپولامین به اضافه پیلوکارپین (1/5 µg /rat) را به صورت intra-CeA و سپس سالیین (1 ml / kg) یا مورفین (7/5 mg /kg) را با تزریق زیر پوستی، دریافت کردند. هر ستون نشان دهنده میانگین ± انحراف معیار، n 7، $P < 0/001$ ، $P < 0/001$ ، $P < 0/001$ در مقایسه با گروه پیلوکارپین-مورفین بعد از آموزش، $P < 0/001$ در مقایسه با گروه سالیین /سالیین بعد از آموزش، $P < 0/001$ در مقایسه با گروه مورفین- سالیین بعد از آموزش.

در تحقیق حاضر همچنین، تزریق مقادیر کمتر اسکوپولامین که در این آزمایش ها اثرات مورفین بر یادگیری را تغییر نداده است، مانع از اثر پیلوکارپین در بهبود فراموشی ناشی از مورفین، شده است. این اثر هنگامی به دست آمد که اسکوپولامین بعد از آموزش و قبل از پیلوکارپین، به درون آمیگدال مرکزی تزریق گردید. تداخل عمل بین سیستم کولینرژیک و اپیوئیدها در فرآیند حافظه، توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است. برای مثال، مصرف آگونیست های گیرنده موسکاربینی فراموشی ناشی از بتا- اندورفین را مهار کرده است [۱۶]. و همچنین فراموشی ناشی از اسکوپولامین، توسط تزریق بعد از آموزش نالوکسان در یادگیری اجتنابی غیرفعال، برگشت داده شده است [۵۱، ۵۸]. همچنین تزریق دو طرفه آتروپین بدخل آمیگدال جانبی- قاعده ای یا ناحیه تگمنتوم شکمی، به ترتیب ترجیح مکانی ناشی از مورفین در یک یادگیری وابسته به پاداش [۶۱] و یادگیری وابسته به حالت مورفین در یادگیری اجتنابی غیرفعال [۷]، را مهار می کند. تزریق درون آمیگدالی اسکوپولامین نیز در آموزش ترجیح مکانی شرطی شده وابسته به آمیگدال، مداخله می کند [۳۵]. در مطالعات زیادی، افزایش حافظه با تزریق آگونیست های کولینرژیک و کاهش حافظه توسط تزریق آنتاگونیست های آن بدخل آمیگدال، استریاتوم و هیپوکامپ، نیز نشان داده شده است [۸، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۷، ۲۰، ۳۸].

فراموشی را در حیوانات القاء کرده است. به عبارت دیگر اسکوپولامین در آمیگدال مرکزی اثر مورفین را در ایجاد فراموشی تقویت کرده است. در حالیکه تزریق پس از آموزش همان مقادیر پیلوکارپین یا اسکوپولامین به تنهایی در درون آمیگدال مرکزی اثر معنی داری در ایجاد فراموشی در حیوانات مورد آزمایش نداشته است.

برخی گزارشها نشان می دهند که، تزریق محیطی مقادیر زیاد پیلوکارپین در بعضی از انواع یادگیری از جمله اجتنابی مهارى [۳۲] و ماز آبی موریس [۹]، موجب افزایش حافظه می گردد. از طرف دیگر برخی از گزارشها نشان می دهند، که تزریق های پس از آموزش آگونیست های موسکاربینی کولینرژیک در درون آمیگدال، موجب افزایش وابسته به مقدار حافظه در روش اجتنابی مهارى و همچنین تغییر در یادگیری پاداش می گردد [۵۷]. در حالیکه تزریق اسکوپولامین به تنهایی به درون آمیگدال، آموزش ترجیح مکانی شرطی شده وابسته به آمیگدال، را کاهش می دهد [۴۲]. با وجود شواهدی که نشان می دهند، که تزریق محیطی و مرکزی مقادیر زیاد پیلوکارپین و اسکوپولامین به ترتیب موجب تقویت و تضعیف حافظه می گردد، در آزمایش های حاضر، مقادیری از این داروها مورد استفاده قرار گرفت که به تنهایی اثری در تخریب حافظه نداشتند، اما اثر مورفین بر حافظه را تغییر دادند.

گیرنده های موسکاربینی آمیگدال مرکزی از القاء فراموشی توسط مورفین پیشگیری کرده و مهار این گیرنده ها، پاسخ مورفین در بروز فراموشی را تقویت می کند. دخالت این گیرنده ها در اثرات مورفین، ممکن است بصورت مستقیم، یا غیر مستقیم و با میانجیگری نوروترانسمیترهای دیگر از قبیل گابا، دوپامین و سروتونین انجام پذیرد.

بطور کلی، مشاهدات ما این فرضیه را که آمیگدال مرکزی یک جایگاه هدف برای اثرات مورفین بر فرآیندهای یادگیری و حافظه است را تأیید می کند و به نظر می رسد که نقش آمیگدال مرکزی در میانجیگری اثرات مورفین بر فرآیندهای یادگیری و حافظه، ممکن است تا حدودی ناشی از فعال سازی سیستم موسکاربینی کولینرژیک باشد. بطوری که، تحریک

References

- avoidance retention deficits produced by intra-septal of the GABA agonist muscimol. *Brain Res* 20 (2000) 10-18.
- [1] Bontempi B, Whelan KT, Risbrough VB, Rao TS, Buccafusco JJ, Lioyd GK, Menzaghi F, (+/-)-4-[[2-(1-methyl-2-pyrrolidinyl)ethyl]thio]phenol hydrochloride, a subtype-selective ligand for nicotinic acetylcholine receptors with putative cognitive-enhancing properties: effects on working and reference memory performances in aged rodents and nonhuman primates. *J Pharmacol Exp Ther* 299 (2001) 297-306.
- [2] Bruins Slot LA, Colpaert FC, Opiates states of memory: receptor mechanisms. *J Neurosci* 19 (1999a) 1052-10529.
- [3] Bruins Slot LA, Colpaert FC. Recall rendered dependent on an opiate state. *Behav Neurosci* 113 (1999b) 337-344.
- [4] Carli M, Balducci C, Samanin R, Low doses of 8-OH-DPAT prevent the impairment of spatial learning caused by intra-hippocampal scopolamine through 5-HT_{1A} receptors in the dorsal raphe. *Br J Pharmacol* 131 (2000) 375-381.
- [5] Castellano C, Effects of morphine and heroin on discrimination learning and consolidation in mice. *Psychopharmacology* 42 (1975) 235-242.
- [6] Castellano C, Cestari V, Cabib S, Puglisi-Allegra S, The effects of morphine on memory consolidation in mice involve both D1 and D2 dopamine receptors. *Behav Neural Biol* 61 (1994) 156-161.
- [7] Darbandi N, Rezayof A, Zarrindast MR. Modulation of morphine state-dependent learning by muscarinic cholinergic receptors of the ventral tegmental area. *Physiol Behav* 94 (2008) 604-610.
- [8] Degrot A, Parent MB, Infusions of physostigmine into the hippocampus or the entorhinal cortex attenuate
- [9] De-Mello N, Souza-Junior IQC, arobrez AP, Pilocarpine prevents age related spatial learning impairments in rats. *Behavioural Brain Research* 158 (2005) 263-268.
- [10] Diazdel Guante MA, Carbonell-Hernandez C, Quirarte G, Cruz-Morales SE, Rivas-Arancibia S, Prado-Alcala RA, Intrastratial injection of choline accelerates the acquisition of positively rewarded behaviors. *Brain Res Bull* 30 (1993) 671-675.
- [11] Diazdel Guante MA, Cruz-Morales SE, Prado-Alcala RA, Time-dependent effects of cholinergic blockade of the striatum on memory. *Neurosci Lett* 122 (1991) 79-82.
- [12] Farr SA, Flood JF, Morley JE, The effect of cholinergic, GABA-ergic, Serotonergic and Glutamatergic receptor modulation on post-trial memory processing in the hippocampus. *Neurobiology of learning and memory* 73 (2000) 150-167.
- [13] Fu Y, Shinnick-Gallagher P, Two intra-amygdaloid pathways to the central amygdala exhibit different mechanisms of long-term potentiation. *Neurophysiol* 93 (2005) 3012-3015.
- [14] Gold PE, Acetylcholine modulation of neural systems involved in learning and memory. *Neurobiology of Learning and Memory* 80 (2003) 194-210.
- [15] Homayoun H, Khavandgar S, Zarrindast MR, Morphine state dependent learning: interactions with alpha2-adrenoceptors and acute stress. *Behav Pharmacol* 14 (2003) 41-48.
- [16] Introini IB, Baratti CM, The impairment of retrieval by beta-endorphine in mice may be a reduction of central cholinergic activity. *Behav Neural Biol* 41 (1984) 152-163.

- [17] Introini-Collison IB, Dalmaz C, McGaugh JL, Amygdala beta-noradrenergic influences on memory storage involve cholinergic activation. *Neurobiol Learn Mem* 65 (1996) 57.
- [18] Hasselmo ME, The role of acetylcholine in learning and memory. *Curr Opin Neurobiol* 16 (2006) 710- 705.
- [19] Izquierdo I, Effects of naloxone and morphine on various forms of memory in the rat: possible role of endogenous opiate mechanisms in memory consolidation. *Psychopharmacology* 66 (1979) 199- 203.
- [20] Izquierdo I, Dacunha C, Rosat R, Jerusalinsky D, Ferreira MBC, Medina JH, Neurotransmitter receptors involved in Posttraining memory processing by the amygdala, medial septum and hippocampus of the rat. *Behavioural and Neural Biology* 58 (1992) 16- 26.
- [21] Izquierdo I, McGaugh JL, Behavioural pharmacology and its contribution to the molecular basis of memory consolidation. *Behavioural Pharmacology* 11 (2000) 517-534.
- [22] Izquierdo I, Medina JH, Role of the amygdala, hippocampus and entorhinal cortex in memory consolidation and expression. *Biol Res* 26 (1993) 573-89.
- [23] Izquierdo LA, Vianna M, Barros DM, Mello e Souza T, Ardenghi P, Sant Anna MK, Rodrigues C, Medina JH, Izquierdo I, Short- and long-term memory are differentially affected by metabolic inhibitors given into hippocampus and entorhinal cortex. *Neurobiol Learn Mem* 73 (2000) 141- 149.
- [24] Jafari-Sabet M, NMDA receptor blockers prevents the facilitatory effects of post-training intra-dorsal hippocampal NMDA and physostigmine on memory retention of passive avoidance learning in rats. *Behavioural Brain Research* 169 (2006) 120- 127.
- [25] Jafari MR, Zarrindast MR, Djahanguiri B, Influence of cholinergic system modulators on morphine state-dependent memory of passive avoidance in mice. *Physiol Behav* 8 (2006) 146-151.
- [26] Kaada BR, Stimulation and regional ablation of the amygdaloid complex with reference to functional representations. In: Eleftheriou BE, editor. *The neurobiology of the amygdala*. New York: Plenum, 1972, p. 205- 282.
- [27] Kapp BS, Whalen PJ, Supple WF, Pascoe JP, Amygdaloid contributions to conditioned arousal and sensory information processing. In: Aggleton JP, editor. *The amygdala: neurobiological aspects of emotion, memory, and mental dysfunction*. New York: Wiley-Liss, 1992 p. 229- 254.
- [28] Khajepour L, Rezayof A, Zarrindast MR, Involvement of dorsal hippocampal nicotinic receptors in the effect of morphine on memory retrieval in passive avoidance task. *Eur J Pharmacol* 584 (2008) 343- 351.
- [29] Khavandgar S, Homayoun H, Zarrindast MR, The effect of L-NA ME and L-arginine on impairment of memory formation and State dependent learning induced by morphine in mice. *Psychopharmacology* 167 (2003) 291- 296.
- [30] Li Z, Wu CF, Pei G, Xu NJ, Reversal of morphine-induced memory impairment in mice by withdrawal in Morris water maze Possible involvement of cholinergic system. *Pharmacol Biochem Behav* 68 (2001) 507- 513.
- [31] McGaugh JL, The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences. *Annu Rev Neurosci* 27 (2004) 1- 28.
- [32] McGaugh JL, Cahill L and Roozendaal B, Involvement of the amygdala in memory storage: Interaction with other brain systems. *Proc Natl Acad Sci* 93 (1996) 13508-13514.
- [33] McGaugh JL, Introini-Collison IB, Naga Hara AH, Memory enhancing effects of posttraining naloxone: involvement of noradrenergic influences in the amygdaloid complex. *Brain Res* 446 (1988) 37- 49.
- [34] McIntyre CK, Power AE, Roozendaal B, McGaugh JL, Role of the basolateral amygdala in memory consolidation. *Ann N Y Acad Sci* 985 (2003) 273- 293.
- [35] McIntyre CK, Ragozzino ME, Gold PE, Intra-amygdala infusions of scopolamine impair performance on a conditioned place preference task but not a spatial radial maze task. *Behav Brain Res* 95 (1998) 219- 226.
- [36] Mishima K, Egashira N, Matsumoto Y, Iwasaki K, Fujiwara M, Involvement of reduced acetylcholine release in Delta9-tetrahydrocannabinol-induced impairment of spatial memory in the 8-arm radial maze. *Life Sci* 72 (2002) 397- 407.
- [37] Nishimura M, Shiigi Y, Kaneto H, State dependent and/or direct retrieval by morphine in mice. *Psychopharmacology* 100 (1990) 27- 30.
- [38] Ohno M, Kikusui M, Yoshimatsu A, Yamamoto T, Watanabe S, Somatostatin alleviates impairment of

- working memory induced by hippocampal muscarinic M1 receptor blockade in rats. *Eur J Pharmacol* 271 (1994) 557- 560.
- [39] Packard MG, Wingard JC, Amygdala and "emotional" modulation of the relative use of multiple memory systems. *Neurobiol Learn Mem* 82 (2004) 243- 252.
- [40] Paxinos G, Watson C, *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 6th ed. San Diego, CA Academic Press. 2007.
- [41] Pitkanen A, Savander V, LeDoux JE, Organization of intra-amygdaloid circuitries in the rat: an emerging framework for understanding functions of the amygdala. *Trends Neurosci* 20 (1997) 517- 523.
- [42] Power AE, Vazdarjanova A, McGaugh JL. Muscarinic cholinergic influences in memory consolidation. *Neurobiology of Learning and Memory* 80 (2003) 178- 193.
- [43] Ragozzino ME, Gold PE, Task-dependent effects of intra-amygdala morphine injections attenuation by intra-amygdala glucose injections. *Journal of Neuroscience* 14 (1994) 7478- 7485.
- [44] Ragozzino ME, Wenk GL, Gold PE, Glucose attenuates a morphine-induced decrease in hippocampal acetylcholine output: an in vivo microdialysis study in rats. *Brain Res* 655 (1994) 77- 82.
- [45] Ramirez MJ, Honer WG, Minger SL, Francis PT, Changes in hippocampal SNAP-25 expression following afferent lesions. *Brain Res* 997 (2004) 133- 135.
- [46] Reisine T, Bell GI, Molecular biology of opioid receptor. *Trends Neurosci* 16 (1993) 506- 510.
- [47] Rezayof A, Amiri R, Rassuli Y, Zarrindast MR, Influence of nitric oxide on morphine-induced amnesia and interaction dopaminergic receptor agents. *Physiol Behav* 88 (2006b) 124- 131.
- [48] Rezayof A, Khajehpour L, Zarrindast MR, The amygdala modulates morphine-induced state-dependent memory retrieval via muscarinic acetylcholine receptors. *Neuroscience* 160 (2009) 255- 263.
- [49] Rezayof A, Motevasseli T, Rassouli Y, Zarrindast MR, Dorsal hippocampal dopamine receptors are involved in mediating ethanol state-dependent learning. *Life Sci* 80 (2007) 285- 292.
- [50] Roozendaal B, McGaugh JL, Glucocorticoid receptor agonist and antagonist administration into the basolateral but not central amygdala modulates memory storage. *Neurobiol Learn Mem* 67 (1997) 176-179
- [51] Rush DK, Reversal of scopolamine-induced amnesia of passive avoidance by pre- and post-training naloxone. *Psychopharmacology* 89 (1986) 296- 300.
- [52] Sah P, Faber ESL, Lopez De Armentia M, Power J, The amygdaloid complex: Anatomy and Physiology. *Physiol Rev* 83 (2003) 803- 834.
- [53] Squire LR, Knowlton BJ, The medial temporal lobe, the hippocampus and memory systems of the brain, In: Gazzaniga MS, editor, *The new cognitive neuroscience*. 2ed. ed. Cambridge Massachusetts MIT press, 2000, p. 765-780.
- [54] Ukai M, Lin HP, Involvement of mu-opioid receptors and cholinergic neurotransmission in the endomorphin-induced impairment of passive avoidance learning in mice. *Behav Brain Res* 129 (2002) 197- 201.
- [55] Vaccarino AL, Olson GA, Olson RD, Kastin AJ, Endogenous opiates. *Peptide* 20 (1999) 1527-1575.
- [56] Vander Zee EA, Luiten PGM, Muscarinic acetylcholine receptors in the hippocampus, neocortex and amygdala: a review of immunocytochemical localization in relation to learning and memory. *Progress in Neurobiol* 58 (1999) 409- 471.
- [57] Vazdarjanova A, McGaugh JL, Basolateral amygdala is involved in modulating consolidation of memory for classic fear conditioning. *The journal of neuroscience* 19(1999) 6615- 6622.
- [58] Walker DL, McGlynn T, Grey C, Ragozzino M, Gold PE, Naloxone modulates the behavioral effects of cholinergic agonists and antagonists. *Psychopharmacology* 105 (1991) 57- 62.
- [59] Wantanabe Y, Ikegaya Y, Saito H, Abe K, Roles of GABA(a), NMDA and muscarinic receptors in induction of long-term potentiation in the medial and lateral amygdala in vitro. *Neurosci Res* 21(1995) 317- 322.
- [60] Zangene FZ, Motamedi F, Bakhtiarian A, The role of cholinergic system on the consolidation of memory and its interaction with dopaminergic system. *Acta Medica Iranica* 3 (2006) 172-180.
- [61] Zarrindast MR, Farajzadeh Z, Rostami P, Rezayof A, Nourjah P, Involvement of the ventral tegmental area (VTA) in morphine-induced memory retention in morphine-sensitized rats. *Behav Brain Res* 163 (2005 b) 100-106.
- [62] Zarrindast MR, Jafari-sabet M, Rezayof M, Djahanguiri

B, Rezayof A,. Involvement of NMDA receptors in morphine state-dependent learning in mice. *Int J Neurosci* 116 (2006b) 731-743.

[63] Zarrindast MR, Rezay of A, Morphine state-dependent learning: sensitization and inter- actions with dopamine receptors. *Eur J Pharmacol* 497 (2004) 197-204.