Original Article

Nicotine restores morphine-induced amnesia via activation of dopamine D1 receptors in the nucleus accumbens

Azizbeigi R[1], Piri M[2*]

1- Department of Physiology, Faculty of Veterinary, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, I. R. Iran.
2- Department of Biology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Ardabil Branch, Ardabil, I. R. Iran.

Received March 8, 2012; Accepted June 13, 2012

Abstract:

Background: Drugs of abuse such as nicotine and morphine produce their effects through the stimulation of the mesolimbic dopaminergic pathway. Therefore, the present study aimed to evaluate the effect of pre-test injection of nicotine on morphine state-dependent learning as well as the effect of intra-nucleus accumbens (NAc) administration of D1 receptor antagonist on nicotine's effects in morphine state-dependent learning model.
Materials and Methods: This experimental study was performed on 200 male rats. Rats were anesthetized with intra-peritoneal injection of ketamine hydrochloride plus xylazine and then placed in a stereotaxic frame. Two stainless-steel cannuale were placed in the NAc shell. The behavioral testing was started using an inhibitory avoidance task and afterwards the step-through latency of entering into the dark compartment was measured as a criterion for the assessment of memory.
Results: Post-training injection of morphine induced amnesia. The post-training morphine-induced amnesia was restored by pre-test administration of the same doses of morphine and also nicotine. Moreover, the pre-test intra-NAc injection of SCH23390 prevented the nicotine reversal of morphine effect on memory.
Conclusion: The results of this study suggest that the dopamine D1 receptor of the NAc may play an important role in improving the effect of nicotine on morphine-induced amnesia.

Keywords: Morphine, Nicotine, Dopamine D1 receptor, Nucleus accumbens, Inhibitory avoidance memory

* **Corresponding Author.**
Email: biopiri@iauardabil.ac.ir
Tel: 0098 912 254 3585
Fax: 0098 451 772 8026

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences November, 2012; Vol. 16, No 5, Pages 445-453

Please cite this article as: Azizbeigi R, Piri M. Nicotine restores morphine-induced amnesia via activation of dopamine D1 receptors in the nucleus accumbens. ***Feyz*** 2012; 16(5): 445-53.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-03-29]

برگشت فراموشی القاء شده با مورفین توسط نیکوتین از طریق فعال شدن گیرنده‌های دوپامینی D1 هسته آکومبنس

روناک عزیز بیگی [۱]، مرتضی پیری [۲*]

خلاصه:

سابقه و هدف: داروهایی که مورد سوء مصرف قرار می‌گیرند، نظیر نیکوتین و مورفین بیشتر اثرات خود را از طریق مسیر دوپامینرژیک مزولیمبیک ایجاد می‌نمایند. بر این اساس، در مطالعه حاضر اثر تزریق قبل از آزمون نیکوتین بر روی یادگیری وابسته به وضعیت مورفین و اثر تزریق آنتاگونیست گیرنده D1 به داخل هسته آکومبنس بر روی اثرات نیکوتین بر روی یادگیری وابسته به وضعیت مورفین مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی بر روی ۲۰۰ سر موش صحرایی نر انجام شد. پس از بیهوش نمودن موش‌ها با تزریق درون صفاقی کتامین و زایلازین در دستگاه استریوتاکس 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 به‌عنوان معیار حافظه اندازه گیری شد.

نتایج: تزریق پس از آموزش مورفین باعث القاء فراموشی می‌شود. فراموشی القاء شده با مورفین پس از آموزش با به‌کار بردن همان دوزهای مورفین قبل از آزمون اصلاح می‌گردد. تزریق قبل از آزمون نیکوتین نیز می‌تواند فراموشی القاء شده با مورفین را برگرداند. به‌علاوه، تزریق قبل از آزمون SCH23390 به داخل هسته آکومبنس از بازگشت حافظه تخریب شده با مورفین توسط نیکوتین جلوگیری می‌نماید.

نتیجه‌گیری: این یافته‌ها نشان می‌دهند که گیرنده‌های دوپامینی D1 هسته آکومبنس نقش مهمی در اثرات بهبود بخش نیکوتین بر روی فراموشی القاء شده با مورفین دارند.

واژگان کلیدی: مورفین، نیکوتین، گیرنده‌های دوپامینی D1، هسته آکومبنس، حافظه اجتنابی مهاری

دو ماه‌نامه علمی– پژوهشی فیض، دوره شانزدهم، شماره ۵، آذر و دی ۱۳۹۱، صفحات ۴۵۳-۴۴۵

مقدمه

مدل یادگیری اجتنابی مهاری به‌صورت گسترده در مطالعات فارماکولوژیکی، برای بررسی حافظه درازمدت که در ایجاد آن هیپوکامپ یا ساختارهای جانبی مانند استریاتوم نقش دارند، مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱]. شکل‌گیری حافظه یک فرآیند پیچیده می‌باشد که در آن نواحی مختلف مغزی و میانجی‌های عصبی متنوع دخیل می‌باشند [۲]. هسته آکومبنس یکی از ساختارهای کلیدی استریاتوم شکمی است که جزئی از مسیر پاداش مزولیمبیک می‌باشد. این هسته بیشتر ورودی‌های خود را از ناحیه تگمنتوم شکمی دریافت می‌نماید و در فرآیندهای پاداش، تمرکز، انگیزش و یادگیری دخیل می‌باشد [۳،۴]. باید توجه داشت که ارتباط هسته آکومبنس با ناحیه تگمنتوم شکمی یک ارتباط دو طرفه می‌باشد و بیشتر خروجی‌های هسته آکومبنس نیز به ناحیه تگمنتوم شکمی ختم می‌شوند.

[۱] مربی، گروه فیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج

[۲] استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل

* **نشانی نویسنده مسئول:**

اردبیل، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه زیست شناسی

تلفن: ۰۹۱۲ ۲۵۴۳۵۸۵ **دورنویس:** ۰۴۵۱ ۷۷۲۸۰۲۶

پست الکترونیک: biopiri@iauardabil.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۲/۱۸ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۹۱/۳/۲۴

گزارش شده است که یک حلقه عملکردی بین هیپوکامپ و نورون‌های دوپامینرژیک مغز میانی وجود دارد که فعال شدن این لوپ باعث تسهیل شکل‌گیری تقویت دراز مدت سیناپسی و یادگیری شده و مهار آن می‌تواند باعث تخریب حافظه و یادگیری در مدل‌های مختلف یادگیری گردد [۴،۳]. مورفین و نیکوتین جزء داروهایی می‌باشند که هر دو مورد سوء مصرف قرار می‌گیرند و هر دو می‌توانند حافظه و یادگیری را در مدل‌های مختلف یادگیری تحت تأثیر قرار دهند [۴]. مطالعات پیشین نشان می دهند مورفین باعث القاء فراموشی و ایجاد یادگیری وابسته به وضعیت می‌شود [۵]. تزریق سیستمیک مورفین قبل یا بعد از آموزش باعث تخریب حافظه اجتنابی مهاری می‌شود و تزریق مجدد مورفین قبل از آزمون باعث بازگشت حافظه تخریب شده توسط مورفین روز آموزش می‌شود [۳،۴،۸-۶]. این پدیده یادگیری وابسته به وضعیت خوانده می‌شود. یادگیری وابسته به وضعیت پدیده‌ای است که در آن به یادآوری اطلاعاتی که جدیدا کسب شده‌اند تنها هنگامی امکان‌پذیر می‌باشد که حیوان از لحاظ حسی و فیزیولوژیک در همان شرایطی قرار گیرد که در هنگام کد بندی اطلاعات در آن شرایط قرار داشته است [۹]. ایجاد یادگیری وابسته به وضعیت توسط مورفین این احتمال را مطرح می‌نماید که اپیوئیدهای درون-

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-03-29]

زاد مغز نقش تعدیل کننده در تثبیت و به یادآوری اطلاعات دارند [۸]. از طرف دیگر برهمکنش متقابل بین مورفین و نیکوتین در زمینه اثر ضد دردی [۱۰]، کاتالپسی و ترجیح مکان شرطی شده در مطالعات قبلی مشخص شده است [۱۱]. نتایج مطالعات قبلی ما هم-چنین نشان می‌دهد که بین مورفین و نیکوتین در زمینه حافظه اجتنابی مهاری برهمکنش وجود دارد و تزریق قبل از آزمون نیکوتین همانند مورفین روز آزمون، باعث بازگشت حافظه تخریب شده با مورفین روز آموزش می‌شود [۷،٦]. مطالعات ما هم‌چنین نقش نیتریک اکساید و گلوتامات را در میانجی گری اثرات بهبود بخش نیکوتین بر روی فراموشی القاء شده با مورفین نشان داده است [۱۲،٤،۳]، اما باید توجه داشت که نقش بقیه نوروترانسمیترها در میانجی‌گری اثرات نیکوتین بر بهبود حافظه اجتنابی تخریب شده با مورفین مورد بررسی قرار نگرفته است. با توجه به اینکه افزایش رهایش دوپامین در هسته آکومبنس که یکی از نواحی هدف اصلی نورون‌های دوپامینی ناحیه تگمنتوم شکمی می‌باشد، ویژگی مشترک بسیاری از داروهای اعتیاد آور از جمله مورفین و نیکوتین می‌باشد [۱۳]، بررسی نقش سیستم دوپامینی در نواحی هدف ناحیه تگمنتوم شکمی از جمله هسته آکومبنس، در مشخص شدن مکانیزم اثر نیکوتین بر روی حافظه تخریب شده با مورفین حائز اهمیت می‌باشد. آنچه اهمیت این تحقیق را افزایش می‌دهد توجه داشتن به این نکته کلیدی و مهم می‌باشد که سیستم دوپامینی یکی از مهمترین سیستم-های تأثیرگذار بر روی حافظه اجتنابی مهاری می‌باشد [١٤]. دوپامین اثرات خود بر روی حافظه را از طریق اثر بر روی گیرنده‌های ویژه غشایی اعمال می‌نماید [١٥]. گیرنده‌های دوپامینی بر اساس شباهت ساختاری و فارماکولوژیکی به دو گروه گیرنده‌های D1 و D2 تقسیم بندی می‌شوند [١٦]. گیرنده‌های گروه D1 شامل گیرنده D1 و D5 و گیرنده‌های گروه D2 شامل گیرنده D2، D3 و D4 هستند. مطالعات نشان می‌دهند که گیرنده‌های دوپامینی D1 با آنزیم آدنیلیل سیکلاز در غشاء سلول جفت شده‌اند و فعال شدن آنها باعث افزایش cAMP در داخل سلول می‌شود. با توجه به اینکه افرادی که به مواد اپیوئیدی وابستگی دارند، معمولا به‌طور هم‌زمان سیگار نیز مصرف می‌نمایند که محتوی نیکوتین می‌باشد، می‌توان بیان داشت که سوء مصرف مورفین و نیکوتین معمولا همراه با هم اتفاق می‌افتد. با در نظر داشتن این نکته که هر دو ماده فوق سیستم دوپامینی مزولیمبیک را فعال می‌نمایند و نیکوتین قادر به اصلاح حافظه تخریب شده با مورفین می‌باشد، در این مطالعه سعی شده است نقش گیرنده‌های دوپامینی D1 در هسته آکومبنس در این فرآیند مورد بررسی قرار گیرد. به بیان دیگر این مطالعه می‌خواهد به این سوال پاسخ دهد که آیا اثرات نیکوتین بر روی حافظه تخریب شده با مورفین توسط گیرنده‌های دوپامینی D1 در هسته آکومبنس میانجی گری می‌شود یا نه.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی که سال ۸۹ در پژوهشکده علوم شناختی (تهران ـ ایران) انجام گرفت، از ۲۰۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به وزن تقریبی۲۵۰–۲۰۰ گرم که از انستیتو پاستور ایران تهیه شدند، استفاده گردید. حیوان‌ها به حیوانخانه تحقیقاتی منتقل شده، در هر قفس ۵ سر موش قرار داده شد. لازم به‌ذکر است که از این ۲۰۰ سر موش به‌کار رفته در این مطالعه فقط داده‌های مربوط به ۱۸٤ حیوان در آنالیز نهایی مورد استفاده قرار گرفت و داده‌های ١٦ سر موش دیگر به دلایل مختلفی مانند اشتباه در کانول‌گذاری و بسته شدن کانول‌ها کنار گذاشته شد. در طول آزمایش‌ها آب و غذای کافی در اختیار موش‌ها قرار می‌گرفت و هر سه روز یکبار قفس موشها تمیز می‌شد. دمای حیوانخانه بین ۳ ±۲۲ درجه سانتی‌گراد متغیر بود. قبل از جراحی به مدت یک هفته به موش‌ها اجازه داده شد که خود را با شرایط حیوانخانه تطبیق دهند. در طول یک هفته به‌منظور جلوگیری از تنش کار، هر حیوان روزانه به مدت ۵ دقیقه با دست لمس می‌شد. هر حیوان فقط یک بار استفاده شده و در گروه هشت تایی قرار داده می‌شد. همه آزمایش‌ها در طول روز انجام شدند. دستگاه یادگیری اجتنابی مهاری (غیر فعال)، مدل Step-Through، از جعبه‌ای تشکیل شده است که به‌وسیله دیواره‌ای به دو قسمت سفید و سیاه با اندازه یکسان (با ابعاد ۲۰×۲۰×۳۰ سانتی-متر) تقسیم شده است. درون دیواره بین دو قسمت، درب کشویی به ابعاد ۹×۷ سانتی‌متر تعبیه شده است که می‌توان در موقع لزوم آن را باز کرد. کف و دیواره‌های بخش سفید رنگ دستگاه از جنس پلکسی گلاس غیرشفاف ساخته شده و فاقد هر گونه سقف می‌باشد. این قسمت توسط نور غیرمستقیم فلورسنت آفتابی روشن می‌شود. در کف بخش سیاه رنگ دستگاه میله‌های فولادی با فاصله یک سانتی‌متری وجود دارد. این میله‌ها توسط سیم رابطی به دستگاه تحریک کننده متصل شده‌اند که امکان انتقال شوک الکتریکی به حیوانات مورد آزمایش را فراهم می‌کنند. داروهای مورد استفاده در این تحقیق عبارت بودند از مورفین، نیکوتین و SCH23390 که بلافاصله قبل از آزمایش‌ها داروهای مورفین و SCH23390 در سرم فیزیولوژیک استریل ۰/۹ درصد استریل حل گردید و pH نیکوتین بعد از حل شدن در سرم فیزیولوژیک ۰/۹ درصد توسط سود ۰/۱ نرمال به محدوده ۷/٤ رسید. موش‌های صحرایی توسط تزریق کتامین هیدروکلراید (۵۰ mg/kg) به‌علاوه زیلازین (mg/kg ٤) بی‌هوش می‌شدند. بعد از بی‌هوشی، حیوانات در دستگاه

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-03-29]

استریوتاکس قرار داده می‌شدند و دو کانول راهنمای (G ۲۲) بر اساس اطلس پاکسینوس و واتسون (۱۹۹۷) به‌صورت دو طرفه، دو میلی‌متر بالاتر از محل تزریق قرار داده می‌شدند. مختصات هسته آکومبنس برابر (AP=+۱، ML=±۱، V=-۷/۳) می‌باشد. بعد از قرار دادن کانول‌ها در مختصات مورد نظر با استفاده از سیمان دندان پزشکی کانول‌های راهنما در جای خود محکم می‌شدند. برای جلوگیری از بسته شدن کانول‌های راهنما در طی آزمایش در داخل کانول‌های راهنما، کانول‌های (G ۲۷) قرار داده می‌شدند. پس از جراحی و قبل از تزریق درون مغزی دارو به حیوان اجازه داده می شد ۵ تا ۷ روز دوره بهبودی پس از جراحی را به‌منظور رفع استرس و تخریب بافتی احتمالی توسط جراحی سپری کرده و به حالت عادی خود برگردند. روش اجتنابی مهاری برای بررسی حافظه در موش‌های صحرایی در دو روز متوالی انجام می‌شود. روز اول یا روز آموزش شامل آموزش دادن حیوان‌ها در دستگاه بوده، در روز دوم یا روز آزمون میزان حافظه حیوان‌های آموزش دیده بررسی می‌شود. در روش اجتنابی مهاری مدل Step-through، در روز آموزش هر حیوان به آرامی در بخش روشن دستگاه قرار می‌گیرد و به‌مدت ۵ ثانیه به آن اجازه داده می‌شود برای آشنایی با محیط در این قسمت بماند. 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 شده و به آرامی به قفس برگردانده می‌شود. موش‌هایی که در این مرحله بیشتر از ۱۲۰ ثانیه در ورود به بخش تاریک تأخیر داشته باشند از ادامه آزمایش حذف می‌شوند. 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 سرحیوان بسته شده، حیوان تحریک الکتریکی با شدت یک میلی‌آمپر و به‌مدت ۳ ثانیه، که توسط دستگاه تحریک کننده به میله‌های فولادی کف بخش تاریک منتقل می‌شود، را دریافت می‌کند. 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 می‌شود. 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. بعد از تأخیر ۱۲۰ ثانیه‌ای در ورود به بخش سیاه دستگاه که به‌عنوان 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 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. در جلسه آزمون که ۲۴ ساعت پس از مرحله آموزش انجام می‌شود، 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 به‌عنوان معیاری برای بررسی میزان حافظه در نظر گرفته می‌شود. بیشترین مقدار تأخیر برای ورود به بخش تاریک که به‌عنوان حافظه کامل شناخته می‌شود ۳۰۰ ثانیه در نظر گرفته می‌شود. برای تزریق دارو از کانول (G ۲۷) دندانپزشکی به طول ۱۵ میلی‌متر، (دومیلی‌متر بزرگ‌تر از کانول راهنما) به‌منظور دسترسی دقیق به هسته آکومبنس و جلوگیری از آسیب آن استفاده شد. این سر سوزن به کت‌دان تیوب نوزاد (شماره ٤) متصل می‌باشد. برای تزریق از سرنگ هامیلتون ۲ میکرولیتر استفاده شد. در مرحله تزریق پس از برداشتن سیم داخل کانول راهنما، سر سوزن ۲۷G دندانپزشکی در داخل کانول راهنما ۲۲G قرار داده شده، در هر کانول ۰/۳ میکرولیتر دارو در مدت۹۰-٦۰ ثانیه تزریق شد. این زمان به‌منظور 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 ۰/٦ میکرولیتر است. در طول تزریق به حیوان اجازه داده می‌شود بدون هیچ استرسی آزادانه حرکت کند. پس از کشتن حیوان‌ها توسط کلروفرم با تزریق رنگ متیلن بلو ۱ درصد (۰/۳ µl) به درون هر دو کانول، مغز از درون جمجمه بیرون آورده شد و به‌منظور 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 به‌وسیله 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. در همه آزمایش‌های توضیح داده شده میزان تأخیر ورود حیوان به خانه سیاه در روز آزمون به‌عنوان ملاک حافظه در نظر گرفته شده، نمره هر گروه به‌صورت میانگین و انحراف‌معیار استاندارد ثبت می‌گردید. هم‌چنین، تعداد آموزش هر حیوان نیز در روز آموزش ثبت می‌گردید. به‌منظور تعیین وجود اختلاف معنادار

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-03-29]

بین گروه‌های آزمایش، از روش تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون توکی استفاده گردید. اختلاف در سطح $P<۰/۰۵$ به‌عنوان تفاوت معنادار در نظر گرفته شد. برای انجام محاسبات آماری از نرم افزار SPSS و برای رسم نمودارها از نرم افزار Sigma Plot استفاده شد.

آزمایش اول : بررسی تأثیر مورفین بر حافظه

هفت گروه حیوان در این آزمایش به‌کار رفت. چهار گروه اول مقادیر مختلف مورفین (۰، ۲/۵، ۵، ۷/۵ میلی‌گرم برکیلوگرم) را بلافاصله پس از آموزش و سالین را قبل از آزمون به‌صورت درون صفاقی دریافت کردند. سه گروه باقیمانده مورفین (۷/۵ میلی‌گرم برکیلوگرم) را پس از آموزش و مقادیر مختلف مورفین (۲/۵، ۵، ۷/۵ میلی‌گرم برکیلوگرم) را قبل از آزمون دریافت کردند.

آزمایش دوم: بررسی اثر نیکوتین بر حافظه تخریب شده با مورفین

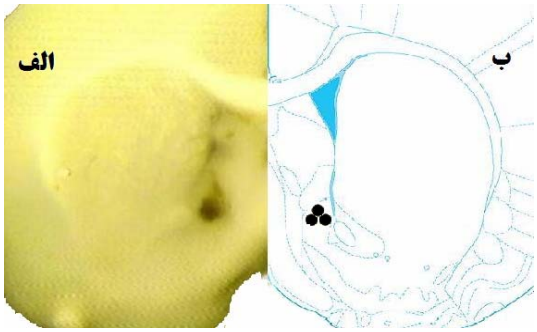
در این آزمایش هشت گروه حیوان به‌کار رفت، تمامی گروه‌ها بلافاصله بعد از آموزش مورفین (۷/۵ میلی‌گرم برکیلوگرم) دریافت کردند و در روز آزمون دوزهای مختلف نیکوتین (۰، ۰/۱، ۰/۲، ۰/٤ میلی‌گرم برکیلوگرم) به‌همراه سالین و یا دوزهای مختلف نیکوتین (۰، ۰/۱، ۰/۲، ۰/٤ میلی‌گرم برکیلوگرم) را همراه با مورفین (۲/۵ میلی‌گرم برکیلوگرم) دریافت داشتند.

آزمایش سوم: بررسی اثر SCH23390 بر روی حافظه

در این آزمایش هشت گروه حیوان به‌کار برده شد. چهار گروه اول در روز آموزش بلافاصله بعد از آموزش سالین را به‌صورت درون صفاقی دریافت کردند و در روز آزمون مقادیر مختلف SCH23390 (۰، ۰/۰۰۰۱، ۰/۰۰۱، ۰/۰۱ میکروگرم برموش) را به‌صورت درون مغزی در داخل هسته آکومبنس دریافت داشتند. چهار گروه باقیمانده در روز آموزش مورفین (۷/۵ میلی‌گرم برکیلوگرم) را به‌صورت درون صفاقی دریافت کردند. در روز آزمون این چهار گروه ۳۰ دقیقه قبل از آزمون، نیکوتین (۰/٤ میلی‌گرم برکیلوگرم) و ۵ دقیقه قبل از آزمون، مقادیر مختلف SCH23390 (۰، ۰/۰۰۰۱، ۰/۰۰۱، ۰/۰۱ میکروگرم برموش) را به‌صورت درون مغزی در داخل هسته آکومبنس دریافت داشتند.

نتایج

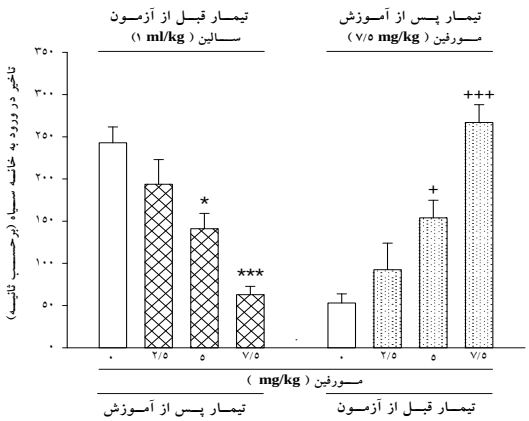
مقطع بافتی مربوط به پوسته هسته آکومبنس در شکل شماره ۱ نشان‌دهنده محل قرارگیری صحیح کانول در مقایسه با شکل شماتیک برگرفته از اطلس پاکسینوس می‌باشد. لازم به ذکر است که تنها داده‌های مربوط به حیواناتی که محل جراحی آنها در مقایسه با اطلس پاکسینوس صحیح بود، در آنالیز آماری مورد استفاده قرار گرفت (شکل شماره ۱).



شکل شماره 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)

آزمایش اول: بررسی اثر مورفین بر حافظه اجتنابی مهاری

آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که تزریق پس از آموزش مورفین حافظه را تغییر می‌دهد [P=۰/۰۰۰۳۸، ۲۲/۷۶= F(۳،۲۸)]. انجام آزمون مکمل توکی نشان داد که تزریق پس از آموزش مورفین (۵، ۷/۵ میلی‌گرم برکیلوگرم) تأخیر در ورود به خانه سیاه، یا به اصطلاح میزان حافظه را در ۲٤ ساعت بعد کاهش می‌دهد. به‌علاوه، به‌کار بردن مورفین قبل از آزمون قادر به بهبود حافظه تخریب شده با مورفین روز آموزش می‌باشد [۰/۰۰۰۶۷ =P، F(۲۸،۳)=۱۹/٤۳]. آزمون مکمل توکی نشان داد که مورفین (۵، ۷/۵ میلی‌گرم برکیلوگرم) قادر به بازگرداندن حافظه تخریب شده با مورفین روز آموزش می‌باشد (شکل شماره ۲).

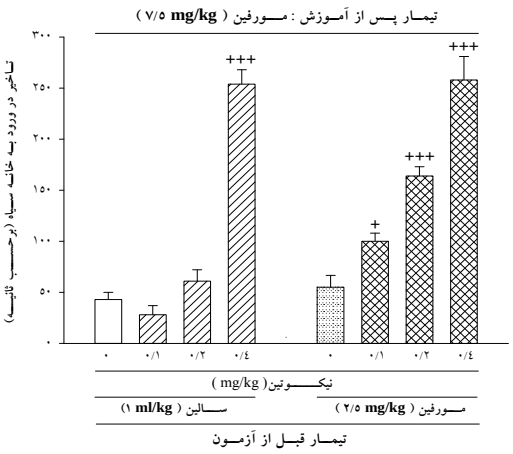


شکل شماره ۲- آثار تزریق پس از آموزش و پیش از آزمون مورفین بر حافظه اجتنابی مهاری و حافظه تخریب شده با مورفین.
P=۰/۰۳٤*، $P<$۰/۰۰۱*** در مقایسه با گروه سالین/سالین و P=۰/۰۲۹+، $P<$۰/۰۰۱+++ در مقایسه با مورفین/سالین می‌باشد.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-03-29]

آزمایش دوم: اثر نیکوتین در حضور و غیاب دوز غیر مؤثر مورفین بر حافظه اجتنابی تخریب شده با مورفین

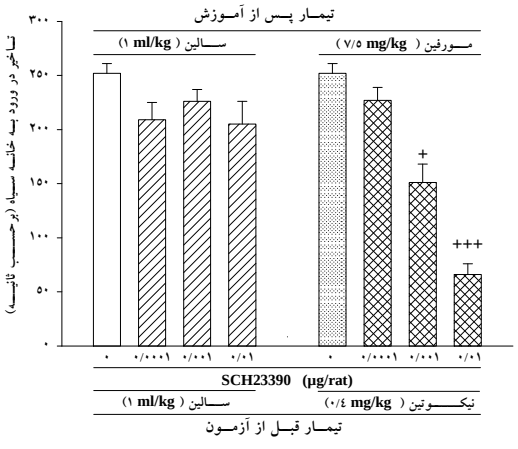
آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون مکمل توکی نشان داد که تزریق نیکوتین (۰/٤ میلی‌گرم برکیلوگرم) در روز آزمون به موش‌هایی که در روز آموزش تحت تأثیر مورفین قرار داشتند، باعث اصلاح حافظه تخریب شده با مورفین روز آموزش می‌شود [F (۲۸،۳)=۱۷/۳۱ ،P<۰/۰۰۱]. هم‌چنین، نتایج ما مشخص نمود که تزریق مقدار غیر مؤثر مورفین همراه با مقادیر مختلف نیکوتین در روز آزمون باعث تقویت اثر بهبود بخش نیکوتین بر حافظه می‌شود؛ به‌گونه‌ای که مقادیر (۰/۲، ۰/٤ میلی-گرم بر کیلوگرم) نیکوتین در این حالت می‌توانند حافظه را اصلاح نمایند [F(۲۸،۳)= ۲۵/۷۸ ،P<۰/۰۰۱] (شکل شماره ۳).



شکل ۳- اثر نیکوتین در حضور و غیاب دوز غیر مؤثر مورفین بر حافظه اجتنابی تخریب شده با مورفین. P=۰/۰۲۳+، P<۰/۰۰۱+++ در مقایسه با مورفین/سالین می‌باشد.

آزمایش سوم: بررسی اثر SCH23390 در میانجی‌گری اثر بهبود بخش نیکوتین بر فراموشی القاء شده با مورفین

تحلیل واریانس یک‌طرفه مشخص نمود که تزریق SCH23390 قبل از آزمون به حیواناتی که در روز آموزش سالین دریافت کرده‌اند، اثری بر روی حافظه اجتنابی مهاری ندارد [F(۳،۲۸) =۱/۷۹ ،P=۰/۰۳۹]. اما تزریق همین مقادیر غیر مؤثر SCH23390 (۰/۰۳، ۰/۰٦، ۰/۱۲ میکروگرم بر موش) به‌همراه دوز مؤثر نیکوتین (۰/۱ میلی‌گرم برکیلوگرم) به‌صورت معنی‌داری جلوی اثر اصلاحی نیکوتین بر روی حافظه تخریب شده با مورفین روز آموزش را می‌گیرد [F(۳،۲۸)=٦٦/۳۷ ،P<۰/۰۰۱] (شکل شماره ٤).



شکل شماره ٤- اثر SCH23390 بر حافظه اجتنابی مهاری و میانجی‌گری اثر بهبود بخش نیکوتین بر فراموشی القاء شده با مورفین. P=۰/۰۳۹+، P<۰/۰۰۱+++ در مقایسه با مورفین/نیکوتین می‌باشد.

بحث

نتایج به‌دست آمده در این مطالعه نشان می‌دهد که تزریق پس از آموزش مورفین باعث تخریب حافظه اجتنابی مهاری می-شود. نتایج ما هم‌سو با مطالعات پیشین می‌باشد که نشان داده‌اند، تزریق پیش یا پس از آموزش مورفین باعث تخریب حافظه در مدل‌های مختلف یادگیری از جمله یادگیری اجتنابی مهاری می شود [۱۷]. هم‌چنین، نتایج ما نشان می‌دهد که تزریق پیش از آزمون مورفین به حیواناتی که در روز آموزش نیز مورفین دریافت کرده‌اند باعث بهبود حافظه تخریب شده با مورفین روز آموزش می‌شود؛ این پدیده یادگیری وابسته به وضعیت نامیده می‌شود [۱۸]. مکانیسم واقعی یادگیری وابسته به وضعیت مشخص نمی-باشد، اما مطالعات قبلی نشان داده‌اند که سیستم‌های نورو-ترانسمیتری مختلف از جمله دوپامین، گلوتامات، استیل کولین، هیستامین، گابا، نیتریک اکساید و کانابینوئیدها در یادگیری وابسته به وضعیت مورفین تا حدودی دخیل می‌باشند [۷،٦]. نتایج این تحقیق هم‌سو با مطالعات پیشین ما نشان می‌دهد تزریق نیکوتین نیز همانند مورفین در روز آزمون باعث بهبود حافظه تخریب شده با مورفین روز آموزش می‌شود [۳،٤،۷]. جالب‌تر اینکه تزریق مقادیر غیر مؤثر نیکوتین به همراه مقدار غیر مؤثر مورفین که هیچ‌کدام به تنهایی در روز آزمون قادر به اصلاح حافظه تخریب شده با مورفین نمی‌باشند، به‌صورت سینرژیک باعث بازگشت حافظه در روز آزمون می‌شوند. نیکوتین همانند مورفین می‌تواند رهایش دوپامین در هسته آکومبنس را افزایش دهد. با توجه به اینکه دوپامین یکی از میانجی‌های عصبی مهمی است که حافظه اجتنابی مهاری را تحت تأثیر قرار می‌دهد، این احتمال مطرح می‌گردد که

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-03-29]

مورفین و نیکوتین در روز آزمون به واسطه افزایش رهایش دوپامین باعث بهبود حافظه تخریب شده با مورفین روز آموزش شوند [۴،۳]. اگرچه شواهد متعددی از این فرضیه حمایت می‌نمایند، ولی نمی‌توانند درستی آن را اثبات نمایند. تزریق سیستمیک نیکوتین، سطح دوپامین خارج سلولی را در هسته آکومبنس افزایش می‌دهد، که این افزایش دوپامین به‌ویژه در بخش قشری هسته آکومبنس رخ می‌دهد [۱۹]. به‌علاوه، تزریق موضعی نیکوتین به داخل VTA یا هسته آکومبنس، آزاد شدن دوپامین را در هسته آکومبنس افزایش می‌دهد [۲۰]. مطالعات نشان داده‌اند که آزاد شدن دوپامین در هسته آکومبنس به‌دنبال تزریق موضعی نیکوتین، به‌طور عمده ناشی از تحریک مستقیم گیرنده‌های نیکوتینی بر روی پایانه‌های دوپامینرژیک می‌باشد، اگر چه القای آزاد سازی گلوتامات توسط نیکوتین و فعال شدن گیرنده‌های NMDA و تولید نیتریک اکساید نیز می‌توانند در این فرآیند دخیل باشند [۲۱]. اهمیت سیستم دوپامینی به‌ویژه گیرنده‌های دوپامینی D1 در فرآیند حافظه و تداخل آن با اثرات مورفین در مطالعات پیشین نشان داده شده است [۱۷]. فراموشی القاء شده با تزریق پیش از آموزش مورفین، با تزریق سیستمیک آنتاگونیست گیرنده‌های دوپامینی D1 تشدید می‌گردد [۱۷]. به‌علاوه، تخریب حافظه القاء شده توسط تزریق پس از آموزش مورفین در مدل یادگیری اجتنابی مهاری توسط آگونیست گیرنده‌های دوپامینی D1 بلوک می‌گردد [۲۲]. هم‌چنین، گزارش شده است که پیش تیمار طولانی با مورفین به‌واسطه اثر بر سیستم دوپامینی جلوی تخریب حافظه توسط تزریق پس از آموزش مورفین را می‌گیرد [۲۳]. در مورد اهمیت سیستم دوپامینی و گیرنده‌های D1 دوپامینی در هسته آکومبنس در فرآیندهای مرتبط با حافظه نیز شواهد متعددی وجود دارد [۲۴]. مشخص شده است که در موش‌های کوچک آزمایشگاهی تزریق آنتاگونیست گیرنده‌های D1 دوپامینی به هسته آکومبنس بلافاصله بعد از آموزش باعث تخریب حافظه اجتنابی مهاری می‌گردد، ولی اگر این تزریق دو ساعت بعد از آموزش انجام گیرد اثر تخریبی بر روی حافظه ایجاد نمی‌گردد [۲۵]. با وجود تمامی شواهد فوق این فرضیه که گیرنده‌های دوپامینی D1 اثرات نیکوتین بر روی حافظه تخریب‌شده با مورفین را میانجی‌گری می‌نمایند، به‌طور مستقیم مورد مطالعه قرار نگرفته است. تنها راه اثبات قطعی این موضوع تزریق آنتاگونیست اختصاصی D1 به داخل هسته آکومبنس قبل از تزریق سیستمیک نیکوتین 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، اما می‌توانند جلوی برگشت حافظه با نیکوتین روز آزمون را بگیرند؛ بدین منظور از SCH23390 استفاده گردید و نتایج به‌دست آمده در این مطالعه نشان داد که تزریق SCH23390 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 D1 در هسته آکومبنس میانجی‌گری می‌شود [۲۵]. هر چند باید توجه داشت که فرآیندهای دخیل در حافظه فرآیندهایی بسیار پیچیده می‌باشند که در آن نواحی مختلف مغزی و ناقل‌ها عصبی مختلف می‌توانند به‌طور هم‌زمان دخیل و درگیر باشند [۲۶]. بنابراین، می‌بایست اثر سایر ناقل‌های عصبی و سایر نواحی دستگاه لیمبیک بر این پدیده را مورد بررسی قرار داد. نتایج به‌دست آمده در این تحقیق هم‌سو با مطالعات پیشین نشان می‌دهد که سیستم دوپامینی می‌تواند فراموشی القاء شده و یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با داروهایی نظیر مورفین، کانابینوئیدها، لیتیوم و الکل را تحت تأثیر قرار دهد [۳۰-۲۷]. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که دوپامین یکی از مهمترین نورترانسمیترهایی می‌باشد که می‌تواند یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با داروهای مختلف را تحت تأثیر قرار دهد [۴،۳]. نتایج به‌دست آمده در این مطالعه هم‌چنین فرضیه مطرح شده در مطالعات پیشین ما را نیز تقویت می نماید. بر اساس این مطالعات پیشنهاد شده بود که گلوتامات و سیستم نیتریک اکساید به واسطه فعال کردن سیستم دوپامینی مزولمبیک و افزایش رهایش دوپامین در نواحی هدف نظیر هسته آکومبنس می‌توانند باعث برگشت فراموشی مورفین توسط نیکوتین گردند [۴،۳]. این مطالعه نشان می‌دهد که گیرنده‌های دوپامینی موجود در هسته آکومبنس که توسط دوپامین آزاد شده توسط نورون‌های مسیر مزولیمبیک فعال می‌گردد، در میانجی‌گری اثرات بهبود بخش نیکوتین بر روی حافظه نقش مهم و کلیدی دارد و حتی سیستم‌های نوروترانسمیتری دیگر به‌واسطه اثر بر این سیستم می‌توانند، اثرات بهبود بخش نیکوتین را میانجی‌گری نمایند [۴،۳۳-۳۱].

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که مورفین باعث تخریب حافظه اجتنابی مهاری می‌شود و نیکوتین می‌تواند تخریب حافظه القاء شده با مورفین را اصلاح نماید. نتایج ما هم‌چنین نشان می‌دهد که بخشی از اثرات اصلاحی نیکوتین بر روی فراموشی القاء شده با مورفین از طریق گیرنده‌های دوپامینی D1 هسته آکومبنس

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-03-29]

میانجی گری می‌شود؛ چرا که تزریق آنتاگونیست گیرنده دوپامینی D1 به هسته آکومبنس می‌تواند جلوی بازگشت حافظه توسط نیکواین را بگیرد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از خانم مریم السادات شاهین که ما را در آماده سازی این مقاله یاری نمودند، تقدیر و تشکر می‌گردد.

References:

[1] Izquierdo I, McGaugh JL. Behavioural pharmacology and its contribution to the molecular basis of memory consolidation. ***Behav Pharmacol*** 2000; 11(7-8): 517-34.
[2] Izquierdo I. Effect of naloxone and morphine on various forms of memory in the rat: possible role of engogenous opiate mechanisms in memory consolidation. ***Psychopharmacology (Berl)*** 1979; 66(2): 199-203.
[3] Piri M, Zarrindast MR. Nitric oxide in the ventral tegmental area is involved in retrieval of inhibitory avoidance memory by nicotine. ***Neuroscience*** 2011; 175(3): 154-61.
[4] Zarrindast MR, Piri M, Nasehi M, Ebrahimi-Ghiri M. Nitric oxide in the nucleus accumbens is involved in retrieval of inhibitory avoidance memory by nicotine. ***Pharmacol Biochem Behav*** 2012; 101(1): 166-73.
[5] Khajehpour 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*** 2008; 584(2-3): 343-51.
[6] Ahmadi S, Zarrindast MR, Haeri-Rohani A, Rezayof A, Nouri M. Nicotine improves morphine-induced impairment of memory: possible involvement of N-methyl-D-aspartate receptors in the nucleus accumbens. ***Dev Neurobiol*** 2007; 67(8): 1118-27.
[7] Ahmadi S, Zarrindast MR, Nouri M, Haeri-Rohani A, Rezayof A. N-Methyl-D-aspartate receptors in the ventral tegmental area are involved in retrieval of inhibitory avoidance memory by nicotine. ***Neurobiol Learn Mem*** 2007; 88(3): 352-8.
[8] Zarrindast MR, Navaeian M, Nasehi M. Influence of three-day morphine-treatment upon impairment of memory consolidation induced by cannabinoid infused into the dorsal hippocampus in rats. ***Neurosci Res*** 2011; 69(1): 51-9.
[9] Piri M, Moshfegh A, Oryan S, Zarrindast MR. Influence of dorsal hippocampal α2-adrenegic receptors on WIN55, 212-2 state-dependent memory of passive avoidance. ***Qom Univ Med Sci J*** 2010; 4(3): 29-36. [in Persian]
[10] Biala G, Weglinska B. On the mechanism of cross-tolerance between morphine- and nicotine-induced antinociception: involvement of calcium channels. ***Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*** 2006; 30(1): 15-21.
[11] Zarrindast MR, Samadi P, Haeri-Rohani A, Moazami N, Shafizadeh M. Nicotine potentiation of morphine-induced catalepsy in mice. ***Pharmacol Biochem Behav*** 2002; 72(1-2): 197-202.
[12] Zarrindast MR, Farahmandfar M, Rostami P, Rezayof A. The influence of central administration of dopaminergic and cholinergic agents on morphine-induced amnesia in morphine-sensitized mice. ***J Psychopharmacol*** 2006; 20(1): 59-66.
[13] Pierce RC, Kumaresan V. The mesolimbic dopamine system: the final common pathway for the reinforcing effect of drugs of abuse? ***Neurosci Biobehav Rev*** 2006; 30(2): 215-38.
[14] Adriani W, Felici A, Sargolini F, Roullet P, Usiello A, Oliverio A, et al. N-methyl-D-aspartate and dopamine receptor involvement in the modulation of locomotor activity and memory processes. ***Exp Brain Res*** 1998; 123(1-2): 52-9.
[15] Gingrich JA, Caron MG. Recent advances in the molecular biology of dopamine receptors. ***Annu Rev Neurosci*** 1993; 16(3): 299-321.
[16] Missale C, Nash SR, Robinson SW, Jaber M, Caron MG. Dopamine receptors: from structure to function. ***Physiol Rev*** 1998; 78(1): 189-225.
[17] Zarrindast MR, Rezayof A. Morphine state-dependent learning: sensitization and interactions with dopamine receptors. ***Eur J Pharmacol*** 2004; 497(2): 197-204.
[18] Colpaert FC, Koek W, Bruins Slot LA. Evidence that mnesic states govern normal and disordered memory. ***Behav Pharmacol*** 2001; 12(8): 575-89.
[19] Pontieri FE, Tanda G, Orzi F, Di Chiara G. Effects of nicotine on the nucleus accumbens and similarity to those of addictive drugs. ***Nature*** 1996; 382(6588): 255-7.
[20] Ferrari R, Le Novere N, Picciotto MR, Changeux JP, Zoli M. Acute and long-term changes in the mesolimbic dopamine pathway after systemic or local single nicotine injections. ***Eur J Neurosci*** 2002; 15(11): 1810-8.
[21] Picciotto MR. Nicotine as a modulator of behavior: beyond the inverted U. ***Trends Pharmacol Sci*** 2003; 24(9): 493-9.
[22] Costanzi M, Battaglia M, Rossi-Arnaud C, Cestari V, Castellano C. Effects of anandamide and morphine combinations on memory consolidation in cd1 mice: involvement of dopaminergic mechanisms. ***Neurobiol Learn Mem*** 2004; 81(2): 144-9.
[23] Zarrindast MR, Bananej M, Khalilzadeh A, Fazli-Tabaei S, Haeri-Rohani A, Rezayof A. Influence of intracerebroventricular administration of dopaminergic drugs on morphine state-dependent

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-03-29]

memory in the step-down passive avoidance test. ***Neurobiol Learn Mem*** 2006; 86(3): 286–92.
[24] Martinez RC, Oliveira AR, Macedo CE, Molina VA, Brandao ML. Involvement of dopaminergic mechanisms in the nucleus accumbens core and shell subregions in the expression of fear conditioning. ***Neurosci Lett*** 2008; 446(2-3): 112-6.
[25] Manago F, Castellano C, Oliverio A, Mele A, De Leonibus E. 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*** 2009; 16(1): 46-52.
[26] Izquierdo I, Bevilaqua LR, Rossato JI, Bonini JS, Medina JH, Cammarota M. Different molecular cascades in different sites of the brain control memory consolidation. ***Trends Neurosci*** 2006; 29(9): 496-505.
[27] Piri M, Zarrindast MR, Oryan S. Effects of cannabinoidergic system of CA1 area of dorsal hippocampus on the memory of nicotine sensitized rats. ***Advance in Cognitive Science*** 2009; 11(2): 27-37. [in Persian]
[28] Piri M, Zarrindast MR. Modulation of WIN55, 212-2 state-dependent memory by alpha2-adrenergic receptors of the dorsal hippocampus. ***Arch Iran Med*** 2011; 14(6): 389-95.
[29] Zarrindast MR, Misaghi S, Ahmadi S. The dopaminergic system plays a role in the effect of lithium on inhibitory avoidance memory in mice. ***Eur J Pharmacol*** 2008; 590(1-3): 198-203.
[30] Piri M, Nasehi M, Zarrindast MR. Interactions between the Cannabinoid and Nicotinic Systems in Inhibitory Avoidance Learning in Mice. ***J Rafsenjan Univ Med Sci*** 2010; 9(3): 162-74. [in Persian]
[31] Azizbeigi R, Ahmadi S, Babapour V, Rezayof A, Zarrindast MR. Nicotine restores morphine-induced memory deficit through the D1 and D2 dopamine receptor mechanisms in the nucleus accumbens. ***J Psychopharmacol*** 2011; 25(3): 1126–33.
[32] Nasehi M, Piri M, Mafi F, Oryan S, Nasri S, Shahin M. Role of interaction between Nicotine and dopaminergic D2 receptors of dorsal hippocampus on anxiety behavior. ***Kowsar Med J*** 2011; 16(1): 15-20. [in Persian]
[33] Piri M, Nasehi M, Shahin MS, Zarrindast M. The interaction between harmane and nicotinic receptors of dorsal hippocampus in a hole-board test of anxiety in mice. ***Feyz*** 2011; 14(4): 388-97. [in Persian]

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-03-29]