



## Role of L-NAME, a nitric oxide synthase inhibitor, in the improvement of morphine-induced amnesia induced by nicotine

Morteza Piri<sup>1\*</sup>, Maryam-Sadat Shahin<sup>2</sup>, Mohammad Nasehi<sup>3</sup>, Mohammad Reza Zarrindast<sup>2</sup>

1. Dept. Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Ardabil Branch, Ardabil, Iran

2. Young Researchers Club, Islamic Azad University- Shahr-e-rey branch, Tehran, Iran

3. Dept. Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Garmsar branch, Garmsar, Iran

4. Dept. Pharmacology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 18 June 2010

Accepted: 29 Sept 2010

### Abstract

**Introduction:** Drugs of abuse such as nicotine and morphine used systemically by addicts produce their effects via the mesolimbic dopaminergic pathway. Furthermore, evidence indicates that some behavioral effects of nicotine and morphine are mediated by nitric oxide (NO). Based on these observations, the aim of the present study was to investigate the effects of intra-nucleus accumbens (NAc) injection of a nitric oxide synthase (NOS) inhibitor, L-NAME, on the nicotine's effect on the morphine-induced amnesia.

**Methods:** As a model of memory assessment, a step-through type passive avoidance task was used. All animals were bilaterally implanted with a chronic cannulae in the NAc shell and trained by using a 1 mA foot shock. Animals were tested 24 h after training to measure step-through latency.

**Results:** Post-training injection of morphine impaired memory performance on the test day. Pre-test administration of the same doses of morphine reversed amnesia induced by post-training administration of morphine. Moreover, administration of nicotine before the test prevented morphine amnesia. Impairment of memory because of post-training injection of morphine was also prevented by pretest administration of L-NAME. Co-administration of an ineffective dose of nicotine with ineffective doses of L-NAME synergistically improved memory that was impaired by morphine. On the other hand, pre-test intra-NAc injection of L-NAME impaired passive avoidance memory by itself.

**Conclusion:** Considering the effects of pre-test intra-NAc injection of L-NAME alone or in combination with ineffective dose of nicotine on morphine amnesia, it may be concluded that nitric oxide system of nucleus accumbens has an important role in the improvement of morphine-induced amnesia and morphine state-dependent memory caused by nicotine.

**Key words:** L-NAME, Nicotine, Nucleus accumbens, morphine amnesia, Rat

\*Corresponding author e-mail: biopiri@iauardabil.ac.ir

Available online at: www.phypha.ir/ppj

## تأثیر L-NAME (مهار کننده نیتریک اکساید سنتاز) بر روی اثر بهبود بخش نیکوتین روی فراموشی القاء شده با مورفین

دکتر مرتضی پیری<sup>۱\*</sup>، مریم السادات شاهین<sup>۲</sup>، دکتر محمد ناصحی<sup>۳</sup>، دکتر محمدرضا زرین دست<sup>۴</sup>  
 ۱. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل، اردبیل  
 ۲. عضو باشگاه پژوهشگران جوان، شاخه دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرری، شهر ری  
 ۳. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، گرمسار  
 ۴. گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی و مرکز ملی مطالعات اعتیاد، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران  
 دریافت: ۲۸ خرداد ۸۹ پذیرش: ۷ مهر ۸۹

### چکیده

**مقدمه:** مدارک موجود نشان می دهد که بعضی از اثرات رفتاری مورفین و نیکوتین توسط نیتریک اکساید میانجیگری می شود. هدف مطالعه حاضر بررسی اثر تزریق L-NAME به هسته آکومبسن بر روی اثرات نیکوتین بر روی فراموشی القاء شده با مورفین می باشد.  
**روش ها:** برای سنجش حافظه از مدل step-through اجتنابی مهارتی استفاده شد. برای تمامی حیوانات کانول گذاری دو طرفه در پوسته هسته آکومبسن انجام شد، آموزش توسط شوکی با شدت یک میلی آمپر انجام گرفت و ۲۴ ساعت بعد از آموزش تأخیر ورود به خانه سیاه اندازه گیری شد.  
**یافته ها:** تزریق بعد از آموزش مورفین باعث تخریب عملکرد حافظه در روز آزمون می شود. بکار بردن قبل از آزمون همان مقدار از مورفین باعث برگشت حافظه تخریب شده با مورفین روز آموزش می شود. علاوه بر کاربرد نیکوتین قبل از آزمون از فراموشی مورفین جلوگیری می نماید. بکار بردن L-NAME قبل از آزمون، جلوی تخریب حافظه توسط تزریق پس از آموزش مورفین را می گیرد. بکار بردن همزمان مقادیر غیر مؤثر نیکوتین با L-NAME به صورت سینرژیک باعث بهبود حافظه تخریب شده با مورفین می شود. از طرف دیگر تزریق قبل از آزمون L-NAME خود به تنهایی باعث تخریب حافظه اجتنابی مهارتی می شود.  
**نتیجه گیری:** سیستم نیتریک اکساید در هسته آکومبسن نقش مهمی در اثرات بهبود بخش نیکوتین بر روی فراموشی القاء شده با مورفین و یادگیری وابسته به وضعیت مورفین دارد.

واژه های کلیدی: L-NAME، نیکوتین، هسته آکومبسن، فراموشی مورفین، موش صحرایی

### مقدمه

نواحی مختلف مغز و میانجی های مختلف دخیل می باشند [۱]. نیتریک اکساید یک میانجی عصبی گازی شکل می باشد که به روش آنزیمی بعد از فعال شدن گیرنده NMDA توسط آنزیم نیتریک اکساید سنتاز از L- آرژنین ساخته می شود [۲] و بعد از تولید باعث رهاش دوپامین و گلوتامات می شود [۳] نیتریک اکساید در اعمال فیزیولوژیک مختلفی مانند گشاد

شکل گیری حافظه یک فرآیند پیچیده می باشد که در آن

biopiri@iauardabil.ac.ir  
www.phypha.ir/ppj

\* نویسنده مسئول مکاتبات:  
وبگاه مجله:

نیکوتین نیز به مانند مورفین روز آزمون قادر به اصلاح حافظه تخریب شده با مورفین می باشد [۱۸، ۱۹] و تزریق NMDA به داخل هسته آکومینس احتمالاً به واسطه تحریک نورون های خاردار هسته آکومینس که منجر به مهار نورون های دوپامینرژیک ناحیه تگمتموم شکمی و کاهش رهایش دوپامین می شود، جلوی اصلاح حافظه تخریب شده با مورفین توسط نیکوتین روز آزمون را می گیرد [۱۹]. با توجه به اینکه فعال شدن گیرنده های NMDA باعث تولید نیتریک اکساید می شود و خود نیتریک اکساید رهایش گلوتامات را تحت تأثیر قرار می دهد [۳]، در این مطالعه برای اولین با نقش نیتریک اکساید در هسته آکومینس در میانجی گری اثرات نیکوتین بر روی یادگیری وابسته به وضعیت مورفین مورد بررسی قرار گرفته است. بدین منظور از L-NAME مهار کننده نیتریک اکساید سنتاز که به عنوان آنتاگونیست نیتریک اکساید عمل می نماید استفاده شده است.

## مواد و روشها

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

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

کنندگی رگی [۲]، تمایز عصبی [۴]، تقویت دراز مدت سیناپسی (LTP) [۵]، تغییر شکل سیناپسی [۶] و حافظه و یادگیری نقش دارد [۷]. مطالعات نشان می دهند که نیتریک اکساید انواع مختلف یادگیری و حافظه از جمله یادگیری حرکتی [۸]، یادگیری اجتنابی غیرفعال [۹] و حافظه فضایی [۱۰] را تحت تأثیر قرار می دهد.

از طرف دیگر مورفین و نیکوتین جزء داروهایی می باشند که مورد سوء مصرف قرار می گیرند و هر دو حافظه و یادگیری را در مدل های مختلف یادگیری تحت تأثیر قرار می دهند [۱۱]. افزایش رهایش دوپامین از ناحیه تگمتموم شکمی ویژگی مشترک بسیاری از داروهای اعتیاد آور از جمله مورفین و نیکوتین می باشد [۱۲]. نورونهای دوپامینرژیک ناحیه تگمتموم شکمی، نواحی مختلف مغز مانند هسته آکومینس، هیپوکامپ، قشر پیش پیشانی و پالیدیوم شکمی را عصب دهی می کنند [۱۳]. مطالعات نشان می دهند که تغییر در میزان رهایش دوپامین، نقش اساسی در تنظیم جریان اطلاعات از مدار لیمبیک بازی می کند [۱۴]. میزان رهایش دوپامین از نورون های دوپامینرژیک ناحیه تگمتموم شکمی در نواحی هدف توسط ورودیهای تحریکی و مهارتی که به این ناحیه وارد می شوند کنترل می گردد [۱۵]. اصلی ترین ورودیهای مهارتی ناحیه تگمتموم شکمی نورون های می باشند که از هسته آکومینس منشاء می گیرند [۱۶]. در بخش پوسته هسته آکومینس نورونهای خاردار وجود دارد که حدود ۹۰٪ از نورون های هسته آکومینس را تشکیل می دهد [۱۷]. این نورون های مهارتی که به عنوان نورترانس میتر اصلی از گاما آمینوبوتیریک اسید استفاده می نمایند، ناحیه تگمتموم شکمی و پالیدیوم شکمی را عصب دهی می نمایند [۱۷]. نورون های خاردار هسته آکومینس ورودیهای گلوتاماترژیک را از کورتکس مغز، تالاموس، هیپوکامپ و آمیگدال دریافت می نمایند و محتوی گیرنده های NMDA می باشند.

گزارشات متعدد نشان می دهند که تزریق سیستمیک مورفین قبل یا بعد از آموزش باعث تخریب حافظه اجتنابی مهارتی می شود و تزریق مجدد مورفین قبل از آزمون باعث بازگشت حافظه تخریب شده توسط مورفین روز آموزش می شود، این پدیده یادگیری وابسته به وضعیت خواننده می شود [۱۸، ۱۹]. مطالعات قبلی ما همچنین مشخص نمود که

1. inhibitory (passive) avoidanse apparatus

می شود. برای بررسی حافظه، هر موش، همانند روز اول، در بخش روشن دستگاه قرار گرفته، درب کشویی بعد از ۵ ثانیه باز شده و زمان تأخیر حیوان در ورود به بخش تاریک دستگاه به عنوان معیاری برای بررسی میزان حافظه در نظر گرفته می شود. بیشترین مقدار تأخیر برای ورود به بخش تاریک که به عنوان حافظه کامل شناخته می شود ۳۰۰ ثانیه در نظر گرفته می شود.

داروهای مورد استفاده در این تحقیق عبارت بودند از مورفین (تماد، ایران)، نیکوتین (سیگما، آمریکا) و L-NAME (سیگما، آمریکا) که همگی آنها بلافاصله قبل از آزمایش ها در سرم فیزیولوژیک ۰/۹ درصد استریل حل گردیدند، PH نیکوتین بعد از حل شدن در سرم فیزیولوژیک ۰/۹ درصد توسط سود ۰/۱ نرمال به محدوده ۷/۴ رسید. در مرحله تزریق پس از برداشتن سیم داخل کانول راهنما، سر سوزن ۲۷ G دندانپزشکی در داخل کانول راهنما ۲۲ G قرار داده شده، در هر کانول ۰/۳ میکرولیتر دارو در مدت ۶۰ ثانیه تزریق شد.

پس از کشتن حیوان ها توسط کلروفرم با تزریق رنگ متیلن بلو ۰/۱٪ (۰/۳ μl) به درون هر دو کانول، مغز از درون حجمه بیرون آورده شده، درون فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت. پس از یک هفته، محل ورود کانول به مغز به وسیله میکروسکوپ لوپ مورد مطالعه قرار گرفت. پس از کسب اطمینان از محل قرارگیری کانول ها در نواحی مورد نظر اطلاعات حاصل از حیوان مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار می گرفت.

در همه آزمایش های توضیح داده شده میزان تأخیر ورود حیوان به خانه سیاه در روز آزمون به عنوان ملاک حافظه در نظر گرفته شده، نمره هر گروه به صورت میانگین و انحراف معیار استاندارد (Mean ± S.E.M) ثبت گردید. به منظور تعیین وجود اختلاف معنادار بین گروه ها آزمایشی، از روش تحلیل واریانس یک طرفه<sup>۷</sup> یا دو طرفه<sup>۸</sup> و آزمون توکی<sup>۹</sup> استفاده گردید. اختلاف در سطح  $P < 0.05$  به عنوان تفاوت معنا دار در نظر گرفته شد. برای انجام محاسبات آماری از نرم افزار SPSS

موش های صحرایی توسط تزریق کتامین هیدروکلراید<sup>۱</sup> (۵۰ mg/kg) بعلاوه زیلین<sup>۲</sup> (۴ mg/kg) بی هوش شدند. بعد از بی هوشی حیوانات در دستگاه استریوتاکسی قرار داده شدند. دو کانول راهنمای (۲۲ G)<sup>۳</sup> به صورت دو طرفه دو میلی متر بالاتر از محل تزریق بر اساس اطلس پاکسینوس و واتسون (۱۹۹۷) قرار داده می شود [۱۹]. مختصات هسته آکومبیس برابر (AP = +۱، ML = ±۱، V = -۷/۳) 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<sup>۴</sup> را به منظور رفع استرس و تخریب بافتی احتمالی توسط جراحی سپری کرده به حالت عادی خود برگردد.

روش اجتنابی مهارتی برای بررسی حافظه در موشهای صحرایی در دو روز متوالی انجام می شود. روز اول یا روز آموزش<sup>۵</sup> شامل آموزش دادن حیوان ها در دستگاه بوده، روز دوم یا روز آزمون<sup>۶</sup> میزان حافظه حیوان های آموزش دیده بررسی می شود. در روش اجتنابی مهارتی مدل Step-through، هر حیوان به آرامی در بخش روشن دستگاه قرار می گیرد، 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 می شود. پس از گذشت ۳۰ دقیقه این حیوان دوباره به بخش سفید دستگاه منتقل شده و بعد از ۵ ثانیه درب کشویی باز می شود تا حیوان وارد بخش تاریک شود. با ورود حیوان به بخش تاریک، درب کشویی پشت سر حیوان بسته شده، حیوان تحریک الکتریکی با شدت یک میلی آمپر و به مدت ۳ ثانیه را دریافت می کند. آزمون ۲۴ ساعت پس از مرحله آموزش انجام

1. ketamine hydrochloride
2. xylazine
3. gauge
4. recovery
5. training day
6. testing day

7. One-way ANOVA

8. Two-way ANOVA

9. Tukey's test

آزمون میزان حافظه اجتنابی مهارتی گروه‌های مختلف حیوانی مورد مطالعه و اندازه‌گیری قرار گرفت.

بررسی اثر L-NAME همراه با نیکوتین بر روی حافظه تخریب شده با مورفین: در این آزمایش هفت گروه حیوان بکار برده شد، گروه اول بلافاصله پس از آموزش سالیان را به صورت درون صفاقی و ۳۰ دقیقه قبل از آزمون سالیان را به صورت زیر جلدی دریافت کردند، شش گروه باقیمانده بلافاصله بعد از آموزش مورفین (۶ mg/kg) را به صورت درون صفاقی دریافت کردند و در روز آزمون سالیان، L-NAME (۰/۱۲ mg/kg) و یا نیکوتین (۰/۰۶ mg/kg) را همراه L-NAME (۰/۱۲ mg/kg) را دریافت کردند. ۲۴ ساعت پس از آموزش در روز آزمون میزان حافظه اجتنابی مهارتی گروه‌های مختلف مورد مطالعه و اندازه‌گیری قرار گرفت.

## یافته‌ها

آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که تزریق پس از آموزش مورفین حافظه را تغییر می‌دهد. انجام آزمون مکمل توکی نشان داد که تزریق پس از آموزش مورفین (۴، ۶ mg/kg) تأخیر در ورود به خانه سیاه، یا به اصطلاح میزان حافظه را در ۲۴ ساعت بعد کاهش داد [  $p < 0/001$  ]،  $F(3, 28) = 24/93$ .

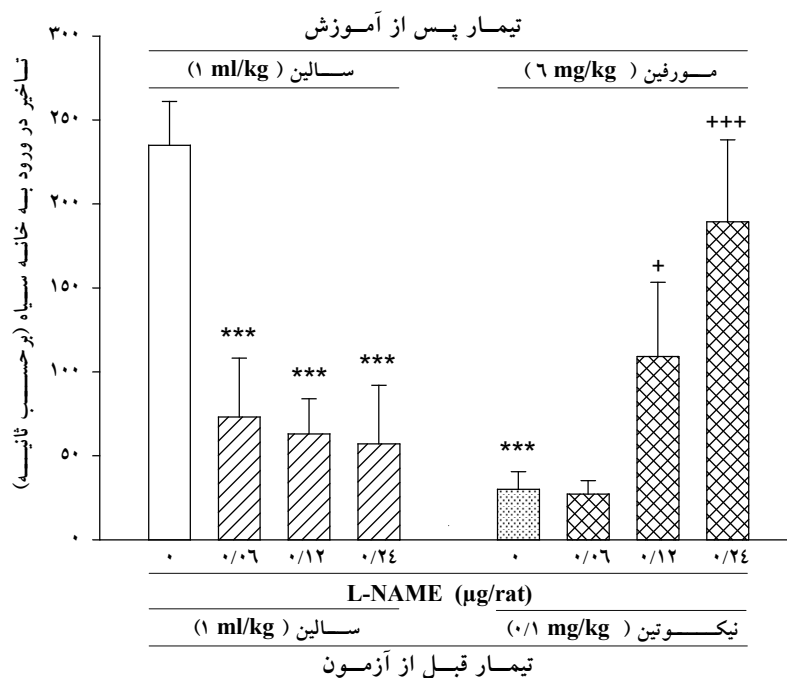
بعلاوه بکار بردن مورفین قبل از آزمون قادر به بهبود حافظه تخریب شده با مورفین روز آموزش می‌باشد [  $p < 0/001$  ]،  $F(3, 28) = 21/16$ . آزمون مکمل توکی نشان داد که مورفین (۴، ۶ mg/kg) قادر به بازگرداندن حافظه تخریب شده می‌باشد. آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه مشخص نمود که تزریق قبل از آزمون نیکوتین به موش‌هایی که در روز آموزش سالیان دریافت کرده اند اثر معنی‌داری بر روی حافظه اجتنابی مهارتی ندارد [  $p > 0/05$  ]،  $F(4, 35) = 0/89$ . از طرف دیگر تحلیل واریانس یک طرفه مشخص نمود که تزریق قبل از آزمون نیکوتین به موش‌هایی که در روز آموزش دوز موثر مورفین را دریافت کرده بودند باعث تغییر حافظه تخریب شده توسط مورفین می‌شود [  $p < 0/001$  ]،  $F(4, 35) = 17/52$ . آزمون مکمل توکی نشان داد که نیکوتین (۴، ۶ mg/kg)

و برای رسم نمودارها از نرم افزار SigmaPlot استفاده شد. بررسی تأثیر مورفین بر حافظه: هفت گروه حیوان در این آزمایش بکار رفت. گروه اول بلافاصله پس از آموزش سالیان را به صورت درون صفاقی و ۳۰ دقیقه قبل از آزمون سالیان را به صورت زیر جلدی دریافت کردند. سه گروه دیگر مقادیر مختلف مورفین (۶، ۴، ۲ mg/kg) را بلافاصله پس از آموزش به صورت درون صفاقی دریافت کردند. سه گروه باقیمانده مورفین (۶ mg/kg) را به صورت درون صفاقی بلافاصله پس از آموزش و مقادیر مختلف مورفین (۶، ۴، ۲ mg/kg) را به صورت زیر جلدی ۳۰ دقیقه قبل از آزمون دریافت کردند. ۲۴ ساعت پس از آموزش در روز آزمون میزان حافظه اجتنابی مهارتی گروه‌های مختلف مورد مطالعه و اندازه‌گیری قرار گرفت.

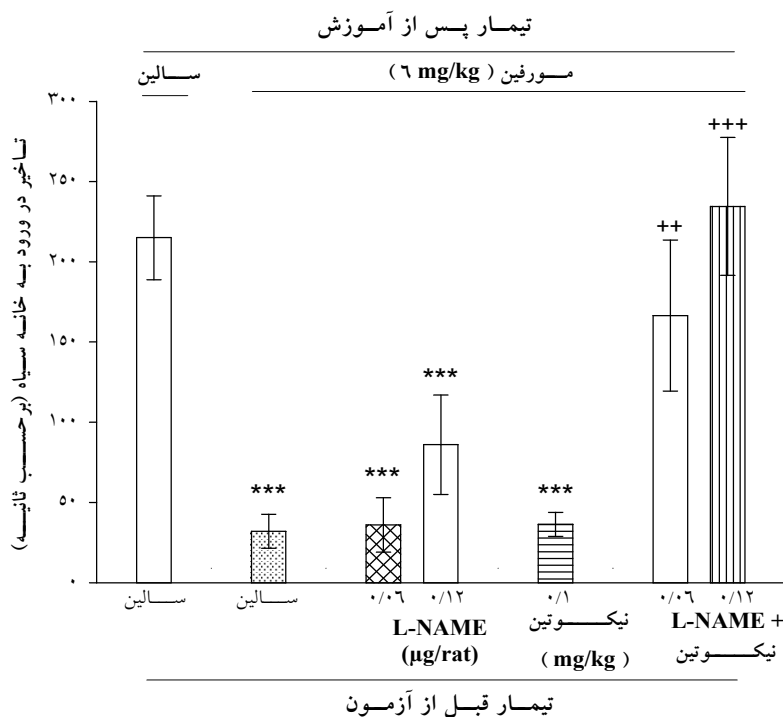
بررسی اثر نیکوتین در حضور و غیاب مورفین بر روی حافظه: در این آزمایش ده گروه حیوان بکار رفت. پنج گروه اول در روز آموزش سالیان را بلافاصله بعد از آموزش به صورت درون صفاقی دریافت کردند. این حیوانات یک روز بعد، ۳۰ دقیقه قبل از آزمون سالیان یا مقادیر مختلف نیکوتین (۰/۷۵، ۰/۵، ۰/۲۵ و ۰/۱) را دریافت نمودند. پنج گروه باقیمانده در روز آموزش بلافاصله بعد از آموزش مورفین (۶ mg/kg) را به صورت درون صفاقی دریافت کردند و در روز آزمون ۳۰ دقیقه قبل از تست سالیان یا مقادیر مختلف نیکوتین (۰/۷۵، ۰/۵، ۰/۲۵ و ۰/۱) را به صورت زیر جلدی دریافت کردند. ۲۴ ساعت پس از آموزش در روز آزمون میزان حافظه اجتنابی مهارتی گروه‌های مختلف مورد مطالعه و اندازه‌گیری قرار گرفت.

بررسی اثر L-NAME بر روی حافظه: در این آزمایش هشت گروه حیوان به کار رفت. چهار گروه بلافاصله پس از آموزش سالیان را به صورت درون صفاقی دریافت کردند، در روز آزمون این چهار گروه ۵ دقیقه قبل از آزمون مقادیر مختلف L-NAME (۰/۲۴، ۰/۱۲، ۰/۰۶ و ۰) را به صورت درون مغزی در هسته آکومبیس دریافت کردند. چهار گروه باقیمانده بلافاصله بعد از آموزش مورفین (۶ mg/kg) را به صورت درون صفاقی دریافت کردند و در روز آزمون ۵ دقیقه قبل از تست مقادیر مختلف L-NAME (۰/۲۴، ۰/۱۲، ۰/۰۶ و ۰) را دریافت داشتند. ۲۴ ساعت پس از آموزش در روز





شکل ۳- اثر L-NAME بر حافظه اجتنابی مهاری و بر حافظه اجتنابی تخریب شده با مورفین.  $***P < 0.001$  در مقایسه با گروه سالیین/ سالیین و  $+++P < 0.001$ ،  $+P < 0.05$  در مقایسه با مورفین / سالیین می باشد.



شکل ۴- اثر L-NAME و نیکوتین بر حافظه اجتنابی تخریب شده با مورفین.  $***P < 0.001$  در مقایسه با گروه سالیین/ سالیین و  $+++P < 0.001$ ،  $++P < 0.01$  در مقایسه با مورفین / سالیین می باشد.

دار NAME (۰/۰۶، ۰/۱۲، ۰/۲۴ μg/rat) تخریب معنی دار ایجاد می نمایند. بعلاوه تحلیل واریانس یک طرفه مشخص

حافظه اجتنابی مهاری می شود [  $F(3, 28) = 17.29, p < 0.001$  ]. آزمون مکمل توکی نشان داد که مقادیر مختلف L-

پدیده یادگیری وابسته به وضعیت می باشد که مکانیسم دقیق آن تاکنون شناخته نشده است. در یادگیری وابسته به وضعیت برای به یادآوری اطلاعاتی که اخیراً کسب شده جاندار باید در همان شرایطی قرار گیرد که اطلاعات در آن شرایط ثبت شده است، این شرایط یکسان با تزریق بعضی از داروها در روز آموزش و آزمون بدست می آید. نتایج این تحقیق همسو با مطالعات پیشین ما نشان می دهد تزریق نیکوتین نیز به مانند مورفین در روز آزمون باعث بهبود حافظه تخریب شده با مورفین روز آزمون می شود [۱۸]. نیکوتین به مانند مورفین می تواند رهایش دوپامین در هسته آکومبسنس را افزایش دهد با توجه به اینکه دوپامین یکی از میانجی های عصبی مهمی است که حافظه اجتنابی مهارتی را تحت تأثیر قرار می دهد، این احتمال وجود دارد که مورفین و نیکوتین در روز آزمون به واسطه افزایش رهایش دوپامین باعث بهبود حافظه تخریب شده با مورفین روز آموزش شوند. تزریق سیستمیک نیکوتین سطح دوپامین خارج سلولی را در هسته آکومبسنس افزایش می دهد، که این افزایش دوپامین بویژه در بخش قشری هسته آکومبسنس رخ می دهد [۲۱]. علاوه تزریق موضعی نیکوتین به داخل VTA یا هسته آکومبسنس، آزاد شدن دوپامین را در هسته آکومبسنس افزایش می دهد [۲۲]. مطالعات نشان داده اند که آزاد شدن دوپامین در هسته آکومبسنس بدنبال تزریق موضعی نیکوتین، بطور عمده ناشی از تحریک مستقیم گیرنده های نیکوتینی بر روی پایانه های دوپامینرژیک می باشد، اگرچه القای آزاد سازی گلوتامات توسط نیکوتین و فعال شدن گیرنده های NMDA و تولید نیتریک اکساید نیز می تواند در این فرآیند دخیل باشد [۲۳].

نتایج این تحقیق نشان می دهند که تزریق L-NAME به هسته آکومبسنس باعث بهبود حافظه تخریب شده با مورفین روز آموزش می شود، جالب تر اینکه به کار بردن همزمان مقادیر غیر مؤثر نیکوتین با L-NAME که هیچکدام به تنهایی قادر به اصلاح حافظه نمی باشد، همراه با هم به صورت سینرژیک باعث بهبود حافظه اجتنابی مهارتی می شود، که این امر نشان دهنده برهمکنش بین سیستم نیکوتینی و نیتریک اکسایدی در زمینه حافظه اجتنابی مهارتی در هسته آکومبسنس می باشد. Lisman and Grace در سال ۲۰۰۵ پیشنهاد نمودند که یک حلقه عملکردی بین هیپوکامپ و ناحیه تگمنتوم

نمود که بکار بردن L-NAME قبل از آزمون می تواند حافظه تخریب شده توسط تزریق بعد از آموزش مورفین را تغییر دهد [  $F(3, 28) = 8/15, p < 0/001$  ]. آزمون مکمل توکی نشان داد که L-NAME (۰/۲۴، ۰/۱۲) می تواند حافظه تخریب شده با مورفین روز آموزش را اصلاح کند.

آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون مکمل توکی نشان داد که بکار بردن مقدار غیر مؤثر L-NAME و نیکوتین به تنهایی قبل از آزمون تأثیری بر روی حافظه ندارد، اما تزریق مقادیر غیر مؤثر L-NAME و نیکوتین همراه با هم قادر به بهبود حافظه تخریب شده با مورفین روز آموزش می باشد [  $F(5, 42) = 12/81, p < 0/001$  ].

## بحث

مورفین و نیکوتین جزء داروهایی می باشند که به صورت سیستمیک مورد استفاده قرار می گیرند. در پاسخ به مصرف سیستمیک این مواد میزان رهایش دوپامین در هسته آکومبسنس افزایش می یابد و همین امر باعث گرایش مجدد به مصرف این مواد می گردد. از طرف دیگر مطالعات نشان می دهد که بین سیستم نیتریک اکساید با مورفین و نیکوتین برهمکنش وجود دارد، مورفین می تواند بیان آنزیم نیتریک اکساید سنتاز را تنظیم کند [۲۰]. نیکوتین نیز به واسطه افزایش رهایش گلوتامات و فعال نمودن گیرنده های NMDA باعث افزایش تولید نیتریک اکساید می گردد.

شواهد فوق نشان می دهد که این احتمال وجود دارد که در زمینه یادگیری اجتنابی غیر فعال نیز در هسته آکومبسنس بین این سیستم ها برهمکنش وجود داشته باشد. لذا در این مطالعه اثر تزریق پیش از آزمون L-NAME مهار کننده نیتریک اکساید سنتاز در هسته آکومبسنس، در میانجی گری اثرات نیکوتین بر روی یادگیری وابسته به وضعیت مورفین مورد بررسی قرار گرفته است.

همسو با مطالعات پیشین نتایج این تحقیق نیز نشان می دهد که تزریق پس از آموزش مورفین باعث تخریب حافظه اجتنابی مهارتی می شود. 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 می شود، این



دوپامین بر روی حافظه و یادگیری تأثیر می‌گذارد [۱۸]. نتیجه گیری کلی: نتایج این تحقیق مشخص کرد که مورفین قادر به ایجاد یادگیری وابسته به وضعیت می‌باشد و تزریق نیکوتین در روز آزمون به مانند مورفین می‌تواند حافظه تخریب شده با مورفین روز آموزش را اصلاح کند. سیستم نیتریک اکساید هسته آکومینس در این اثر بهبود بخش نیکوتین دخیل می‌باشد، به گونه ای که تزریق مقادیر غیر مؤثر نیکوتین همراه با L-NAME در روز آزمون به صورت سینرژیک حافظه تخریب شده با مورفین را اصلاح می‌نماید، درک مکانیسم واقعی این اثر بهبود بخش نیکوتین و L-NAME نیازمند تحقیقات بیشتر می‌باشد ولی بر اساس شواهد موجود توانایی این داروها در افزایش رهایش دوپامین در هسته آکومینس باعث بهبود حافظه اجتنابی مهارتی می‌شود.

### سپاسگزاری

بخشی از هزینه های این پژوهش توسط پژوهشکده علوم شناختی که وابسته به دانشگاه شهید بهشتی (تهران - ایران) می‌باشد، تامین شده است که بدین وسیله از مسئولین محترم پژوهشکده علوم شناختی تشکر می‌گردد.

## References

- [1] Mahmoodi G, Ahmadi S, Pourmotabbed A, Oryan S, Zarrindast MR, Inhibitory avoidance memory deficit induced by scopolamine: Interaction of cholinergic and glutamatergic systems in the ventral tegmental area. *Neurobiol Learn Mem* 94 (2010) 83-90.
- [2] Zarrindast MR, Shendy MM, Ahmadi S, Nitric oxide modulates state dependency induced by lithium in an inhibitory avoidance task in mice. *Behav Pharmacol* 18 (2007) 289-95.
- [3] West AR, Galloway MP, Inhibition of glutamate reuptake potentiates endogenous nitric oxide-facilitated dopamine efflux in the rat striatum: an in vivo microdialysis study. *Neurosci Lett* 230 (1997) 21-4.
- [4] Nicotera P, Bonfoco E, Brune B, Mechanisms for nitric oxide-induced cell death: involvement of apoptosis. *Adv Neuroimmunol* 5 (1995) 411-20.
- [5] Zarrindast MR, Askari E, Khalilzadeh A, Nouraei N, Morphine state-dependent learning sensitization and interaction with nitric oxide. *Pharmacology* 78 (2006) 66-71.
- [6] Wang JH, Ko GY, Kelly PT, Cellular and molecular bases of memory: synaptic and neuronal plasticity. *J Clin Neurophysiol* 14 (1997) 264-93.
- [7] Rezayof A, Zare-Chahoki A, Zarrindast MR, Rassouli Y, Inhibition of dorsal hippocampal nitric oxide synthesis potentiates ethanol-induced state-dependent memory in mice. *Behav Brain Res* 209 (2010) 189-95.
- [8] Yanagihara D, Kondo I, Nitric oxide plays a key role in adaptive control of locomotion in cat. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93 (1996) 13292-7.
- [9] Qiang M, Chen YC, Wang R, Wu FM, Qiao JT, Nitric oxide is involved in the formation of learning and

- memory in rats: studies using passive avoidance response and Morris water maze task. *Behav Pharmacol* 8 (1997) 183-7.
- [10] Okere CO, Kaba H, Higuchi T, Formation of an olfactory recognition memory in mice: reassessment of the role of nitric oxide. *Neuroscience* 71 (1996) 349-54.
- [11] 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* 584 (2008) 343-51.
- [12] Pierce RC, Kumaresan V, The mesolimbic dopamine system: the final common pathway for the reinforcing effect of drugs of abuse? *Neurosci Biobehav Rev* 30 (2006) 215-38.
- [13] Wittmann BC, Schott BH, Guderian S, Frey JU, Heinze HJ, Duzel E, Reward-related fMRI activation of dopaminergic midbrain is associated with enhanced hippocampus-dependent long-term memory formation. *Neuron* 45 (2005) 459-67.
- [14] Carr DB, O'Donnell P, Card JP, Sesack SR, Dopamine terminals in the rat prefrontal cortex synapse on pyramidal cells that project to the nucleus accumbens. *J Neurosci* 19 (1999) 11049-60.
- [15] Wonnacott S, Sidhpura N, Balfour DJ, Nicotine: from molecular mechanisms to behaviour. *Curr Opin Pharmacol* 5 (2005) 53-9.
- [16] Kalivas PW, Churchill L, Klitenick MA, GABA and enkephalin projection from the nucleus accumbens and ventral pallidum to the ventral tegmental area. *Neuroscience* 57 (1993) 1047-60.
- [17] Afanas'ev I, Ferger B, Kuschinsky K, The associative type of sensitization to d-amphetamine is expressed as an NO-dependent dramatic increase in extracellular dopamine in the nucleus accumbens. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 362 (2000) 232-7.
- [18] 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* 88 (2007) 352-8.
- [19] 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* 67 (2007) 1118-27.
- [20] Cuellar B, Fernandez AP, Lizasoain I, Moro MA, Lorenzo P, Bentura ML, Rodrigo J, Leza JC, Up-regulation of neuronal NO synthase immunoreactivity in opiate dependence and withdrawal. *Psychopharmacology (Berl)* 148 (2000) 66-73.
- [21] Pontieri FE, Tanda G, Orzi F, Di Chiara G, Effects of nicotine on the nucleus accumbens and similarity to those of addictive drugs. *Nature* 382 (1996) 255-7.
- [22] 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* 15 (2002) 1810-8.
- [23] Picciotto MR, Nicotine as a modulator of behavior: beyond the inverted U. *Trends Pharmacol Sci* 24 (2003) 493-9.
- [24] Lisman JE, Grace AA, The hippocampal-VTA loop: controlling the entry of information into long-term memory. *Neuron* 46 (2005) 703-13.
- [25] Zahm DS, Heimer L, Two transpallidal pathways originating in the rat nucleus accumbens. *J Comp Neurol* 302 (1990) 437-46.