

## تأثیر مهارکننده نیتریک اکساید سنتاز در هسته آکومبنس بر روی اثر بهبود بخش نیکوتین در فراموشی القاء شده با اتانول

مرتضی پیری<sup>۱</sup>، اعظم مشفق<sup>۲</sup>، نسرین رئوفی<sup>۲</sup>، مریم السادات شاهین<sup>۳</sup>

دریافت مقاله: ۹۲/۱/۲۶ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۲/۲/۲۲ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۳/۴/۱۰ پذیرش مقاله: ۹۳/۴/۱۶

### چکیده

زمینه و هدف: نیتریک اکساید (NO) برخی از اثرات رفتاری اتانول و نیکوتین را در هسته آکومبنس میانجی‌گری می‌کند. در این مطالعه اثر L-NAME (مهارکننده نیتریک اکساید سنتاز) در هسته آکومبنس، بر روی اثرات نیکوتین در فراموشی القاء شده با اتانول مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی از ۹۶ موش صحرایی نر (۱۲ گروه) استفاده شد. برای سنجش حافظه از مدل step-through حافظه اجتنابی مهاری استفاده گردید. میزان تأخیر حیوان در ورود به خانه سیاه به عنوان معیار حافظه موش‌های صحرایی جنس نر نژاد ویستار اندازه‌گیری شد. برای تمامی حیوانات کانول‌گذاری دو طرفه در پوسته هسته آکومبنس انجام گردید. از آنالیز واریانس یک‌طرفه و به دنبال آن آزمون مقایسات چندگانه برای آنالیز داده‌ها استفاده شد.  $p < 0/05$  به عنوان سطح معنی‌دار اختلاف بین گروه‌ها در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: اتانول فراموشی ( $p < 0/001$ ) و یادگیری وابسته به وضعیت القاء می‌نماید ( $p < 0/001$ ). تزریق نیکوتین ( $p < 0/001$ ) یا L-NAME ( $p < 0/010$ ) قبل از آزمون، از فراموشی اتانول جلوگیری می‌نماید. بکار بردن همزمان مقادیر غیر مؤثر نیکوتین همراه با L-NAME باعث تقویت اثر بهبود بخش L-NAME بر روی حافظه تخریب شده با اتانول می‌شود ( $p < 0/001$ ). از طرف دیگر تزریق قبل از آزمون L-NAME خود به تنهایی باعث تخریب حافظه اجتنابی مهاری می‌شود ( $p < 0/001$ ).

نتیجه‌گیری: نتایج نشان می‌دهد که L-NAME اثر بهبود بخش نیکوتین در هسته آکومبنس بر روی فراموشی القاء شده با اتانول را تقویت می‌نماید.

واژه‌های کلیدی: مهارکننده نیتریک اکساید سنتاز، نیکوتین، فراموشی اتانول، هسته آکومبنس، موش صحرایی

۱- (نویسنده مسئول) استادیار گروه آموزشی زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل، اردبیل، ایران

تلفن: ۰۴۵۱-۷۷۲۸۰۲۶، دورنگار: ۰۲۱-۵۵۴۲۴۶۴۱، پست الکترونیکی: biopiri@yahoo.com

۲- استادیار گروه آموزشی زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، گیلان، ایران

۳- کارشناسی ارشد زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر ری، تهران، ایران

## مقدمه

نیتریک اکساید یک انتقال دهنده عصبی گازی شکل می باشد که به روش آنزیمی توسط آنزیم نیتریک اکساید سنتاز از L-آرژنین ساخته می شود [۱] و بعد از تولید باعث آزادسازی دوپامین و گلوتامات می شود [۲]. نیتریک اکساید در اعمال فیزیولوژیک مختلفی مانند گشادکنندگی رگی، تمایز عصبی، تقویت دراز مدت سیناپسی (Long term potential)، تغییر شکل سیناپسی [۳] و حافظه و یادگیری نقش دارد [۴]. مطالعات نشان می دهند که نیتریک اکساید انواع مختلف یادگیری و حافظه از جمله یادگیری حرکتی، یادگیری اجتنابی غیرفعال [۵] و حافظه فضایی را تحت تأثیر قرار می دهد [۶].

از طرف دیگر اتانول 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 [۵]. افزایش آزادسازی دوپامین از ناحیه تگمنتوم شکمی ویژگی مشترک بسیاری از داروهای اعتیاد آور از جمله اتانول و نیکوتین می باشد [۷]. نورون های دوپامینرژیک ناحیه تگمنتوم شکمی، نواحی مختلف مغز مانند هسته آکومبسن، هیپوکامپ، قشر پیش پیشانی و پالیدیوم شکمی را عصبدهی می کنند [۴].

مطالعات نشان می دهند که تغییر در میزان آزادسازی دوپامین، نقش اساسی در تنظیم جریان اطلاعات از مدار لیمبیک بازی می کند [۸]. مقدار دوپامینی که در نواحی هدف ناحیه تگمنتوم شکمی نظیر هسته آکومبسن و هیپوکامپ آزاد می گردد، توسط ورودی های تحریکی و مهاری که از نواحی مختلف مغز به ویژه از هسته

آکومبسن به ناحیه تگمنتوم شکمی وارد می شوند، کنترل می گردد [۹]. اصلی ترین ورودی های مهاری که نورون های دوپامینرژیک ناحیه تگمنتوم شکمی را تحت تأثیر قرار می دهند از پوسته هسته آکومبسن منشاء می گیرند [۱۰]. حدود ۹۰٪ از نورون های موجود در پوسته هسته آکومبسن را نورون های گابائوژیک مهاری تشکیل دهند که این نورون های مهاری خروجی های خود را به طور اصلی به طور مستقیم و غیر مستقیم به واسطه پالیدیوم شکمی به ناحیه تگمنتوم شکمی ارسال می نمایند [۱۱]. نورون های مهاری گابائوژیک هسته آکومبسن نیز ورودی های گلوتاماترژیک را از کورتکس مغز، تالاموس، هیپوکامپ و آمیگدال دریافت می نمایند و محتوی گیرنده های NMDA (N - متیل - D - آسپاراتات) می باشند [۱۱]. گزارشات متعدد نشان می دهند که تزریق سیستمیک اتانول قبل یا بعد از آموزش باعث تخریب حافظه اجتنابی مهاری می شود و تزریق مجدد اتانول قبل از آزمون باعث بازگشت حافظه تخریب شده توسط اتانول روز آموزش می شود، این پدیده یادگیری وابسته به وضعیت خوانده می شود [۱۲]. مطالعات قبلی ما همچنین مشخص نمود که نیکوتین نیز همانند اتانول روز آزمون قادر به اصلاح حافظه تخریب شده با اتانول می باشد [۵] و گیرنده های NMDA و سیستم نیتریک اکساید در میانجی گری اثرات اصلاحی نیکوتین در فراموشی القاء شده با اتانول در هیپوکامپ پشتی دخیل می باشد [۶]. با وجود این که نقش گیرنده های NMDA و سیستم نیتریک اکساید در هیپوکامپ پشتی در میانجی گری اثرات اصلاحی نیکوتین در فراموشی القاء شده با اتانول مشخص شده است، اما هنوز مطالعه ای در مورد سایر نواحی مغز از جمله هسته آکومبسن انجام نگرفته است. لذا در این

ورود حیوان به این قسمت شوک الکتریکی به حیوان وارد می‌شود.

موش‌های صحرایی توسط داروهای کتامین هیدروکلراید (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زیلزین (۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شدند. بعد از بی‌هوشی با استفاده از دستگاه استریوتاکسی (شرکت استولتینگ - آمریکا) دو کانول راهنما (۲۲ G) دو میلی‌متر بالاتر از محل تزریق قرار داده شد [۱۳]. مختصات محل کانول‌گذاری بر اساس اطلس پاکسینوس و واتسون (۱، AP=+۱، ML=±۱، V=-۷/۳) می‌باشد [۱۳]. بعد از قرار دادن کانول‌ها با استفاده از سیمان دندان پزشکی کانول‌های راهنما در جای خود محکم شدند. پس از جراحی به حیوان اجازه داده شد، ۵ تا ۷ روز دوره بهبودی پس از جراحی را سپری کرده تا به حالت عادی خود برگردد.

آموزش و آزمون در دستگاه یادگیری اجتنابی مهارتی دو روز متوالی انجام گردید. روز اول، روز آموزش و روز دوم، روز آزمون میزان حافظه حیوان‌های آموزش دیده بود. در روز آموزش ابتدا حیوان به آرامی در بخش روشن دستگاه قرار می‌گرفت، پس از گذشت ۵ ثانیه درب کشویی باز شده و بلافاصله بعد از ورود حیوان به خانه سیاه درب کشویی بسته شده و حیوان از دستگاه خارج می‌شد. پس از گذشت ۳۰ دقیقه این حیوان دوباره در بخش سفید دستگاه قرار داده می‌شد و بعد از ۵ ثانیه درب کشویی باز می‌شد، اما این بار به محض ورود حیوان به خانه سیاه و بعد از بستن درب کشویی، حیوان شوک الکتریکی به مدت ۳ ثانیه و با شدت یک میلی‌آمپر را دریافت می‌کرد [۵]. در روز دوم (روز آزمون) برای بررسی حافظه، همانند روز اول، حیوان در بخش روشن دستگاه قرار گرفته، درب کشویی

مطالعه برای اولین بار با تأثیر L-NAME (NG - نیترو - L - آرژینین متیل استر) مهارکننده نیتریک‌اکساید سنتاز در هسته آکومبنس در میانجی‌گری اثرات اصلاحی نیکوتین در فراموشی القاء شده با اتانول مورد بررسی قرار گرفته است.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی که در دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان انجام گرفت، از ۹۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (وزن تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ گرم) استفاده گردید. حیوان‌ها از انستیتو پاستور ایران تهیه شده و به حیوانخانه تحقیقاتی منتقل شدند و به صورت ۵ تایی در قفس‌ها قرار داده شدند. قفس حیوان‌ها هر سه روز یکبار تمیز می‌شد و در تمام مدت انجام آزمایش‌ها موش‌ها دسترسی آزادانه به آب و غذا داشتند. سیکل ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در طی شبانه روز برای موش‌ها برقرار بود و دمای حیوانخانه در تمام مدت انجام آزمایشات بین  $22 \pm 3$  درجه سانتی‌گراد متغیر بود. قبل از جراحی به مدت یک هفته به موش‌ها اجازه داده شد که خود را با شرایط حیوانخانه تطبیق دهند. موش‌ها به طور تصادفی در دوازده گروه هشت تایی قرار گرفتند. همه آزمایش‌ها در طول روز انجام گرفت.

دستگاه یادگیری اجتنابی مهارتی (غیر فعال) مدل Step-Through جعبه‌ای دو قسمتی با ابعاد  $30 \times 20 \times 20$  سانتی‌متر می‌باشد که با یک در کشویی با ابعاد  $7 \times 9$  سانتی‌متر دو قسمت مساوی جعبه از هم جدا شده‌اند. یکی از این قسمت‌ها سفید و دیگری سیاه می‌باشد، در کف بخش سیاه رنگ میله‌هایی وجود دارد که به محض

تزریق شد. مقادیر داروها و زمان بندی تزریق داروها بر اساس مطالعات پیشین انجام گرفت [۵].

همانند مطالعات پیشین در این تحقیق نیز میزان تأخیر هر حیوان در ورود حیوان به خانه سیاه در روز آزمون به عنوان ملاک حافظه در نظر گرفته شد و حافظه هر گروه به صورت میانگین و انحراف استاندارد میانگین (Mean±SEM) ثبت گردید [۱۴]. بررسی معنی دار بودن اختلاف بین گروه های آزمایشی، از تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون مقایسات چندگانه TUKEY استفاده گردید [۱۳] و در تمام آزمایشات  $p < 0.05$  به عنوان تفاوت معنادار بین گروه ها در نظر گرفته شد. برای انجام تجزیه و تحلیل های آماری از نرم افزار SPSS نسخه ۱۷ و برای رسم نمودارها از نرم افزار SigmaPlot نسخه ۱۰ استفاده شد.

### نتایج

در اثر L-NAME در هسته آکومبسن در حضور و غیاب نیکوتین بر روی حافظه اجتنابی مهارتی و فراموشی القاء شده با اتانول، آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد تزریق قبل از آزمون L-NAME به هسته آکومبسن به تنهایی باعث تخریب حافظه اجتنابی مهارتی می شود [  $F(3, 28) = 15/93, p < 0.001$  ]. آزمون مقایسات زوجی TUKEY نشان داد که مقادیر مختلف L-NAME (۰/۱۶، ۰/۰۸، ۰/۰۴ میکروگرم بر موش) تخریب معنی داری در حافظه اجتنابی مهارتی ایجاد می نمایند (نمودار ۱ - سمت چپ). به علاوه تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون مقایسات زوجی TUKEY مشخص نمود که تزریق قبل از آزمون L-NAME (۰/۱۶ میکروگرم بر موش) به هسته آکومبسن می تواند حافظه تخریب شده توسط تزریق قبل از آموزش اتانول را اصلاح نماید

بعد از ۵ ثانیه باز می شد و زمان تأخیر حیوان در ورود به بخش سیاه دستگاه یادگیری اجتنابی مهارتی به عنوان معیاری برای بررسی میزان حافظه در نظر گرفته می شد [۴]. تأخیر ۳۰۰ ثانیه ای در ورود به بخش سیاه بر اساس مطالعات پیشین به عنوان حافظه کامل در نظر گرفته شد [۳].

در این تحقیق از L-NAME (سیگما، آمریکا) استفاده شد. L-NAME بلافاصله قبل از آزمایش ها در سرم فیزیولوژیک ۰/۹٪ استریل حل گردید. 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 مدت ۶۰ ثانیه تزریق شد [۳].

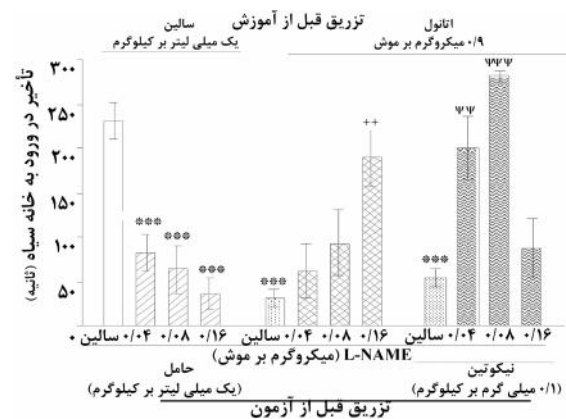
در بررسی اثر L-NAME به تنهایی و همراه با نیکوتین بر روی حافظه و فراموشی القاء شده با اتانول دوازده گروه هشت تایی به کار رفت. چهار گروه بلافاصله پس از آموزش، سالی (۱ میلی لیتر بر کیلوگرم) را به صورت درون صفاقی دریافت کردند، در روز آزمون این چهار گروه ۵ دقیقه قبل از آزمون، سالی (۱ میکرولیتر بر موش) یا مقادیر مختلف L-NAME (۰/۱۶، ۰/۰۸ و ۰/۰۴ میکروگرم بر موش) را به صورت درون مغزی در هسته آکومبسن دریافت کردند. هشت گروه باقی مانده در روز آموزش، ۳۰ دقیقه قبل از آموزش اتانول (۰/۹ گرم بر کیلوگرم) را به صورت درون صفاقی دریافت کردند. در روز آزمون پنج دقیقه قبل از آزمون به هسته آکومبسن این موش ها سالی (۱ میکرولیتر بر موش) یا مقادیر مختلف L-NAME (۰/۱۶، ۰/۰۸ و ۰/۰۴ میکروگرم بر موش) به تنهایی یا همراه با دوز غیر مؤثر نیکوتین (۰/۱ میکروگرم بر موش)

سیستم نیتریک اکساید میانجی گری می گردد و بین سیستم نیتریک اکساید با اتانول و نیکوتین برهمکنش وجود دارد [۱۵]. اتانول قادر به مهار گیرنده های NMDA می باشد و از این طریق باعث کاهش تولید نیتریک اکساید می گردد [۱۶]. در حالی که نیکوتین اثر ضد اتانول بر روی نیتریک اکساید دارد و می تواند به واسطه افزایش آزادسازی گلوتامات از نورون های گلوتاماترژیک و فعال تر نمودن گیرنده های NMDA باعث افزایش تولید نیتریک اکساید گردد [۶]. شواهد فوق نشان می دهد که در زمینه یادگیری اجتنابی غیر فعال بین اتانول، نیکوتین و نیتریک اکساید احتمال وجود برهمکنش وجود دارد.

با توجه به این که در مطالعات پیشین اثر مخرب اتانول بر حافظه اجتنابی مهارى و توانایی اتانول در القاء یادگیری وابسته به وضعیت نشان داده شده و همچنین مشخص شده است که نیکوتین قادر به اصلاح حافظه تخریب شده با اتانول می باشد [۱۷]، در این مطالعه اثر تزریق پیش از آزمون L-NAME (مهار کننده نیتریک اکساید سنتتاز) در هسته آکومبسنس، در میانجی گری اثرات اصلاحی نیکوتین در فراموشی القاء شده با اتانول مورد بررسی قرار می گیرد.

مطالعات پیشین نشان می دهد که اتانول قادر به تخریب حافظه [۱۸] و القاء یادگیری وابسته به وضعیت [۱۹] می باشد [۲۰]. همچنین نیکوتین روز آزمون نیز همانند اتانول روز آزمون باعث بهبود حافظه تخریب شده با اتانول روز آموزش می شود [۶]. مطالعات Moshfegh و همکاران نشان می دهد که اتانول با دوز ۰/۹ گرم بر کیلوگرم قادر به تخریب حافظه اجتنابی مهارى در موش صحرايي و القاء یادگیری وابسته به وضعیت می باشد [۲۱] و نیکوتین ۰/۵ و ۰/۲۵ میکروگرم در هسته آکومبسنس قادر به اصلاح حافظه تخریب شده با اتانول می باشد ولی دوز ۰/۱ میکروگرم بر موش نیکوتین به عنوان دوز غیر مؤثر عمل

[F(۳, ۲۸)=۵/۵۱, p=۰/۰۰۴] (نمودار ۱- وسط). تزریق مقادیر غیر مؤثر نیکوتین (۰/۱ میکروگرم بر موش) همراه با L-NAME اثر بهبود بخش L-NAME بر روی فراموشی القاء شده با اتانول را تقویت می نماید [p<۰/۰۰۱]، [F(۳, ۲۸)=۱۶/۵۳]، به گونه ای که در این حالت دوزهای ۰/۴ و ۰/۸ میکروگرم بر موش L-NAME قادر به اصلاح فراموشی القاء شده با اتانول روز آموزش می باشند (نمودار ۱- سمت چپ).



نمودار ۱- اثر L-NAME به تنهایی و همراه با نیکوتین در هسته آکومبسنس بر حافظه اجتنابی مهارى و در فراموشی القاء شده با اتانول. نتایج به صورت انحراف استاندارد میانگین  $\pm$  میانگین برای هشت سر موش می باشد، برای مقایسه میانگین ها از روش تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون مقایسات زوجی *TUKEY* استفاده گردید.

\*\*\*: p<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه سالین/ سالین، ++: p<۰/۰۱۰ و †: p<۰/۰۵ در مقایسه با اتانول/ سالین و ‡: p<۰/۰۰۱ و †††: p<۰/۰۱۰ در مقایسه با اتانول/ نیکوتین می باشد.

## بحث

اتانول و نیکوتین هر دو مسیر مزولیمبیک پاداش را مغز فعال کرده و باعث ایجاد لذت می گردند و در نتیجه تمایل به مصرف مجدد این مواد در فرد به واسطه تقویت مثبت افزایش می یابد [۵]. مطالعات همچنین نشان می دهد که برخی از اثرات اتانول و نیکوتین به واسطه

کرده و به تنهایی قادر به اصلاح حافظه تخریب شده با اتانول نمی‌باشد [۲۱].

نیکوتین و اتانول هر دو آزادسازی دوپامین را در نواحی هدف مسیر مزولیمبیک به ویژه هسته آکومبسن افزایش می‌دهند، با توجه به این که دوپامین یکی از انتقال‌دهنده‌های عصبی کلیدی در زمینه حافظه و یادگیری می‌باشد، این احتمال وجود دارد که اتانول و نیکوتین در روز آزمون به واسطه افزایش آزادسازی دوپامین باعث بهبود حافظه تخریب شده با اتانول روز آموزش شوند. تزریق سیستمیک نیکوتین سطح دوپامین خارج سلولی را در هسته آکومبسن افزایش می‌دهد که این افزایش دوپامین به ویژه در بخش قشری هسته آکومبسن رخ می‌دهد [۲۲]. به علاوه تزریق موضعی نیکوتین به داخل ناحیه تگمنتوم شکمی [۲۳] یا هسته آکومبسن [۲۴] نیز آزاد شدن دوپامین را در هسته آکومبسن افزایش می‌دهد. در این مطالعه نقش سیستم نیتریک‌اکساید در هسته آکومبسن در میانجی‌گری اثرات اصلاحی نیکوتین در فراموشی القاء شده با اتانول مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که مهارکننده نیتریک‌اکساید سنتاز (L-NAME) در هسته آکومبسن قادر به بهبود حافظه تخریب شده با اتانول روز آموزش می‌باشد، جالب‌تر این که به کار بردن هم‌زمان مقادیر غیر مؤثر نیکوتین با L-NAME که هیچ کدام به تنهایی قادر به اصلاح حافظه نمی‌باشد، همراه با هم به صورت هم‌افزا باعث بهبود حافظه اجتنابی مهارتی تخریب شده با اتانول می‌گردد. این یافته‌ها نشان‌دهنده برهمکنش بین سیستم نیکوتینی و نیتریک‌اکسایدی در زمینه حافظه اجتنابی مهارتی در هسته آکومبسن می‌باشد.

یک شبکه نورونی دو طرفه بین هیپوکامپ و ناحیه تگمنتوم شکمی وجود دارد که اطلاعات ورودی به حافظه

دراز مدت را تنظیم می‌نماید. نورون‌هایی که از ناحیه تگمنتوم شکمی به هیپوکامپ می‌روند نورون‌های دوپامینرژیک می‌باشند، قوس پایین رو این شبکه نورونی متقابل نورون‌های گابائریژیک می‌باشد که از هسته آکومبسن و پالیدیوم شکمی به ناحیه تگمنتوم شکمی می‌باشد [۲۵]. فعال شدن این نورون‌های گابائریژیک می‌تواند فعالیت نورون‌های دوپامینرژیک منشاء گرفته از ناحیه تگمنتوم شکمی را به صورت مستقیم و یا غیرمستقیم از طریق پالیدیوم شکمی تحت تأثیر قرار دهد [۲۶]. یافته‌های ما در این پژوهش پیشنهادکننده این موضوع می‌باشد که تزریق مهارکننده نیتریک‌اکساید سنتاز به هسته آکومبسن باعث کاهش آزادسازی گلوتامات در هسته آکومبسن می‌شود، در نتیجه از میزان فعالیت نورون‌های گابائریژیک که محتوی گیرنده NMDA می‌باشند و از هسته آکومبسن به ناحیه تگمنتوم شکمی می‌روند کاسته می‌شود، در این حالت به واسطه کاهش رهایش GABA (گاما آمینو بوتیریک اسید) در ناحیه تگمنتوم شکمی نورون‌های دوپامینرژیک ناحیه تگمنتوم شکمی فعال‌تر شده و میزان رهایش دوپامین در نواحی هدف نظیر هسته آکومبسن افزایش می‌یابد. با توجه به این که تزریق نیکوتین به هسته آکومبسن نیز آزادسازی دوپامین را افزایش می‌دهد، می‌توان انتظار داشت که نیکوتین و L-NAME اثر اصلاحی یکدیگر در فراموشی القاء شده با اتانول را افزایش دهند. جمع‌بندی یافته‌ها و شواهد پیشین نشان می‌دهد که سیستم نیتریک‌اکساید مستقیماً و یا به واسطه آزادسازی گلوتامات [۲] هسته آکومبسن نورون‌های پایین رو گابائریژیک را تحت تأثیر قرار می‌دهد و در نهایت با اثر بر روی آزادسازی دوپامین بر روی حافظه و یادگیری تأثیر می‌گذارد [۱۴]. لازم به ذکر است هیچ محدودیتی به غیر از تأمین موش با وزن

L-NAME باعث بهبود حافظه تخریب شده با اتانول و تقویت اثر اصلاحی نیکوتین در فراموشی القاء شده با اتانول می‌باشد. درک مکانیسم واقعی اثر بهبود بخش نیکوتین و L-NAME نیازمند تحقیقات بیشتر می‌باشد ولی بر اساس شواهد موجود توانایی این داروها در افزایش آزادسازی دوپامین در هسته آکومبسن باعث بهبود حافظه اجتنابی مهاری می‌شود.

مناسب در این مطالعه وجود نداشت زیرا موش‌های خریداری شده وزن مناسب را نداشتند و بارها آزمایشات با چند هفته تأخیر همراه شد.

### نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد سیستم نیتریک‌اکساید هسته آکومبسن در میانجی‌گری اثرات اصلاحی نیکوتین بر روی فراموش القاء شده با اتانول دخیل می‌باشد.

## References

- [1] Nasehi M, Piri M, Jamali-Raeufy N, Zarrindast MR. Influence of intracerebral administration of NO agents in dorsal hippocampus (CA1) on cannabinoid state-dependent memory in the step-down passive avoidance test. *Physiol Behav* 2010; 100(4): 297-304.
- [2] 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* 1997; 230(1): 21-4.
- [3] 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.
- [4] Piri M, Zarrindast MR. Nitric oxide in the ventral tegmental area is involved in retrieval of inhibitory avoidance memory by nicotine. *Neuroscience* 2011; 175: 154-161.
- [5] Raoufi N, Piri M, Moshfegh A, Shahin MS. Nicotine improves ethanol-induced impairment of memory: possible involvement of nitric oxide in the dorsal hippocampus of mice. *Neuroscience* 2012; 219: 82-91.
- [6] Rezayof A, Shirazi-Zand Z, Zarrindast MR, Nayer-Nouri T. Nicotine improves ethanol-induced memory impairment: the role of dorsal hippocampal NMDA receptors. *Life Sci* 2010; 86(7-8): 260-6.
- [7] Nasehi M, Piri M, Nouri M, Farzin D, Nayer-Nouri T, Zarrindast MR. Involvement of dopamine D1/D2 receptors on harmaline-induced amnesia in the step-down passive avoidance test. *Eur J Pharmacol* 2010; 634(1-3): 77-83.

- [8] 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* 1999; 19(24): 11049-60.
- [9] Wonnacott S, Sidhpura N, Balfour DJ. Nicotine: from molecular mechanisms to behaviour. *Curr Opin Pharmacol* 2005; 5(1): 53-9.
- [10] Kalivas PW, Churchill L, Klitenick MA. GABA and enkephalin projection from the nucleus accumbens and ventral pallidum to the ventral tegmental area. *Neuroscience* 1993; 57(4): 1047-60.
- [11] Afanas'ev I, Feger 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* 2000; 362(3): 232-7.
- [12] Rezayof A, Alijanpour S, Zarrindast MR, Rassouli Y. Ethanol state-dependent memory: involvement of dorsal hippocampal muscarinic and nicotinic receptors. *Neurobiol Learn Mem* 2008; 89(4): 441-7.
- [13] 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.
- [14] 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.
- [15] Navaeian M, Piri M, Pakpour B. Influence of WIN55, 212-2 on morphine state-dependent memory in the step-down passive avoidance test. *Sci Jof Kurdistan Uni of Med Sci* 2011; 16(3): 84-94. [Farsi]
- [16] Cuellar B, Fernandez AP, Lizasoain I, Moro MA, Lorenzo P, Bentura ML, Rodrigo J, et al. Up-regulation of neuronal NO synthase immunoreactivity in opiate dependence and withdrawal. *Psychopharmacology (Berl)* 2000; 148(1): 66-73.
- [17] Bashiri Z, Oryan S, Pakpour B, Navaeian M, Piri M. Influence of nicotine on muscimol state-dependent memory in the step-down passive avoidance test. *Sci J of Kurdistan Uni of Med Sci* 2012; 17(3): 1-10. [Farsi]
- [18] Piri M, Moshfegh A, Oryan S, Zarrindast MR. Influence of dorsal hippocampal 2-adrenergic receptors on WIN55,212-2 state-dependent memory of passive avoidance. *Qom Univ Med Sci J* 2010; 4(3): 29-36. [Farsi]
- [19] Jafari K, Oryan S, Pakpour B, Navaeian M, Piri M. Influence of dorsal hippocampal GABA receptors on state-dependent learning induced by CB1



- cannabinoid receptors agonist in mice. *KAUMS Journal ( FEYZ )* 2012; 16(4): 288-296. [Farsi]
- [20] Piri M, Nasehi M, Zarrindast MR. Influence of Intracerebral Administration of L-Arginine in Dorsal Hippocampus (CA1) on WIN55, 212-2 Induced State-Dependent Memory. *J Zanjan Uni Med Sci* 2010; 18(70): 10-21. [Farsi]
- [21] Moshfegh A, Raoufi N, Shahin MS, Piri M. Influence of nicotine and nitric oxide in the nucleus accumbens on ethanol state-dependent learning. *koomesh* 2014; 15(2): 242-249.
- [22] 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.
- [23] 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.
- [24] Picciotto MR. Nicotine as a modulator of behavior: beyond the inverted U. *Trends Pharmacol Sci* 2003; 24(9): 493-9.
- [25] Lisman JE, Grace AA. The hippocampal-VTA loop: controlling the entry of information into long-term memory. *Neuron* 2005; 46(5): 703-13.
- [26] Zahm DS, Heimer L. Two transpallidal pathways originating in the rat nucleus accumbens. *J Comp Neurol* 1990; 302(3): 437-46.

## Influence of Nitric Oxide Synthase Inhibitor in the Nucleus Accumbens on Improving Effect of Nicotine in Ethanol-Induced Amnesia

M. Piri<sup>1</sup>, A. Moshfegh<sup>2</sup>, N. Raoufi<sup>2</sup>, MS. Shahin<sup>3</sup>

Received: 15/04/2013 Sent for Revision: 12/05/2013 Received Revised Manuscript: 01/07/2014 Accepted: 07/07/2014

**Background and Objective:** Nitric oxide mediated some behavioral effects of nicotine and ethanol in the nucleus accumbens. In the present study, the effects of L-NAME (nitric oxide synthase inhibitor) in the nucleus accumbens on nicotine's effect in ethanol-induced amnesia were investigated.

**Materials and Methods:** In this experimental study 96 adult male wistar rats were used (12 groups). It was used inhibitory avoidable memory step-through model in order to assess memory. The step-through latency for the assessment of memory measured in male Wistar rats. Cannula were bilaterally implanted in the NAC shell of all animals. One-way analysis of variance (ANOVA) followed by multiple comparisons of Tukey test, were used for data analysis.  $p < 0.05$  was statistically considered significant difference among groups.

**Results:** Ethanol induced amnesia ( $p < 0.001$ ) and state-dependent learning ( $p < 0.001$ ). Nicotine injection ( $p < 0.001$ ) or L-NAME ( $p < 0.010$ ) before the test prevented amnesia. Co-administration of an ineffective dose of nicotine with L-NAME potentiated improving effect of L-NAME on memory impaired by ethanol ( $p < 0.001$ ). On the other hand, pre-test intra-NAC injection of L-NAME impairs inhibitory avoidable memory by itself ( $p < 0.001$ ).

**Conclusion:** The results indicated that L-NAME in the nucleus accumbens potentiated improving effect of nicotine on the ethanol-induced amnesia.

**Key words:** Nitric oxide synthase, Nicotine, Ethanol amnesia, Nucleus accumbens, Rat

**Funding:** This research was funded by Lahijan Branch of Islamic Azad University.

**Conflict interest:** None declared.

**Ethical approval:** The Ethics Committee of Tehran University of Medical Sciences approved the study.

**How to cite this article:** Piri M, Moshfegh A, Raoufi N, Shahin MS. Influence of Nitric Oxide Synthase Inhibitor in the Nucleus Accumbens on Improving Effect of Nicotine in Ethanol-Induced Amnesia. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2014; 13(5): 435-44. [Farsi]

1- Assistant Prof., Dept. of Biology, Islamic Azad University, Ardabil branch, Ardabil, Iran  
(Corresponding Author) Tel: (0451) 7728026, Fax: (021) 554224641, E-mail: biopiri@yahoo.com

2- Assistant Prof., Dept. of Biology, Islamic Azad University, Lahijan Branch, Lahijan, Iran

3- MSc of Biology, Islamic Azad University, Shahr-e-rey branch, Tehran, Iran