مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ۱۳، تیر ۱۳۹۳، ۴۴۴-۴۳۵

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

مرتضی پیری[۱]، اعظم مشفق[۲]، نسرین رئوفی[۲]، مریم‌السادات شاهین[۳]

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: نیتریک‌اکساید (NO) برخی از اثرات رفتاری اتانول و نیکوتین را در هسته آکومبنس میانجی‌گری می‌کند. در این مطالعه اثر L-NAME (مهار کننده نیتریک‌اکساید 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. $p<۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌دار اختلاف بین گروه‌ها در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: اتانول فراموشی ($p<۰/۰۰۱$) و یادگیری وابسته به وضعیت القاء می‌نماید ($p<۰/۰۰۱$). تزریق نیکوتین ($p<۰/۰۰۱$) یا L-NAME ($p<۰/۰۱۰$) 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 ($p<۰/۰۰۱$). از طرف دیگر تزریق قبل از آزمون L-NAME خود به تنهایی باعث تخریب حافظه اجتنابی مهاری می‌شود ($p<۰/۰۰۱$).

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 نیتریک‌اکساید سنتاز، نیکوتین، فراموشی اتانول، هسته آکومبنس، موش صحرایی

۱- (نویسنده مسئول) استادیار گروه آموزشی زیست شناسی، 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

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1393.13.5.1.0]

مقدمه

نیتریک‌اکساید یک انتقال‌دهنده عصبی گازی شکل می‌باشد که به روش آنزیمی توسط آنزیم نیتریک‌اکساید سنتاز از L-آرژینین ساخته می‌شود [۱] و بعد از تولید باعث آزادسازی دوپامین و گلوتامات می‌شود [۲]. نیتریک‌اکساید 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 می‌دهند که نیتریک‌اکساید انواع مختلف یادگیری و حافظه از جمله یادگیری حرکتی، یادگیری اجتنابی غیرفعال [۵] و حافظه فضایی را تحت تأثیر قرار می‌دهد [۶].

از طرف دیگر اتانول و نیکوتین جزء داروهایی می‌باشند که مورد سوء مصرف قرار می‌گیرند و هر دو، حافظه و یادگیری را در مدل‌های مختلف یادگیری تحت تأثیر قرار می‌دهند [۵]. افزایش آزادسازی دوپامین از ناحیه تگمنتوم شکمی ویژگی مشترک بسیاری از داروهای اعتیاد آور از جمله اتانول و نیکوتین می‌باشد [۷]. نورون‌های دوپامینرژیک ناحیه تگمنتوم شکمی، نواحی مختلف مغز مانند هسته آکومبنس، هیپوکامپ، قشر پیش پیشانی و پالیدیوم شکمی را عصب‌دهی می‌کنند [۴].

مطالعات نشان می‌دهند که تغییر در میزان آزادسازی دوپامین، نقش اساسی در تنظیم جریان اطلاعات از مدار لیمبیک بازی می‌کند [۸]. مقدار دوپامینی که در نواحی هدف ناحیه تگمنتوم شکمی نظیر هسته آکومبنس و هیپوکامپ آزاد می‌گردد، توسط ورودی‌های تحریکی و مهاری که از نواحی مختلف مغز به ویژه از هسته آکومبنس به ناحیه تگمنتوم شکمی وارد می‌شوند، کنترل می‌گردد [۹]. اصلی‌ترین ورودی‌های مهاری که نورون‌های دوپامینرژیک ناحیه تگمنتوم شکمی را تحت تأثیر قرار می‌دهند از پوسته هسته آکومبنس منشاء می‌گیرند [۱۰]. حدود ۹۰٪ از نورون‌های موجود در پوسته هسته آکومبنس را نورون‌های گابائرژیک مهاری تشکیل دهند که این نورون‌های مهاری خروجی‌های خود را به طور اصلی به طور مستقیم و غیر مستقیم به واسطه پالیدیوم شکمی به ناحیه تگمنتوم شکمی ارسال می‌نمایند [۱۱]. نورون‌های مهاری گابائرژیک هسته آکومبنس نیز ورودی‌های گلوتاماترژیک را از کورتکس مغز، تالاموس، هیپوکامپ و آمیگدال دریافت می‌نمایند و محتوی گیرنده‌های NMDA (N ـ متیل ـ D ـ آسپارتات) می‌باشند [۱۱]. گزارشات متعدد نشان می‌دهند که تزریق سیستمیک اتانول قبل یا بعد از آموزش باعث تخریب حافظه اجتنابی مهاری می‌شود و تزریق مجدد اتانول قبل از آزمون باعث بازگشت حافظه تخریب شده توسط اتانول روز آموزش می‌شود، این پدیده یادگیری وابسته به وضعیت خوانده می‌شود [۱۲]. مطالعات قبلی ما همچنین مشخص نمود که نیکوتین نیز همانند اتانول روز آزمون قادر به اصلاح حافظه تخریب شده با اتانول می‌باشد [۵] و گیرنده‌های NMDA و سیستم نیتریک‌اکساید در میانجی‌گری اثرات اصلاحی نیکوتین در فراموشی القاء شده با اتانول در هیپوکامپ پشتی دخیل می‌باشد [۶]. با وجود این که نقش گیرنده های NMDA و سیستم نیتریک‌اکساید در هیپوکامپ پشتی در میانجی‌گری اثرات اصلاحی نیکوتین در فراموشی القاء شده با اتانول مشخص شده است، اما هنوز مطالعه‌ای در مورد سایر نواحی مغز از جمله هسته آکومبنس انجام نگرفته است. لذا در این

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1393.13.5.1.0]

مطالعه برای اولین با تأثیر L-NAME (NG ـ نیترو ـ L ـ 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 تقریبی۲۵۰–۲۰۰ 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 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. موش‌ها به طور تصادفی در دوازده گروه هشت تایی قرار گرفتند. همه آزمایش‌ها در طول روز انجام گرفت.

دستگاه یادگیری اجتنابی مهاری (غیر فعال) مدل Step-Through جعبه‌ای دو قسمتی با ابعاد ۲۰×۲۰×۳۰ سانتی‌متر می‌باشد که با یک در کشویی با ابعاد ۹× ۷ 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 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 ـ آمریکا) دو کانول راهنما (G ۲۲) دو میلی‌متر بالاتر از محل تزریق قرار داده شد [۱۳]. مختصات محل کانول‌گذاری بر اساس اطلس پاکسینوس و واتسون (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 مهاری 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

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1393.13.5.1.0]

بعد از ۵ ثانیه باز می‌شد و زمان تأخیر حیوان در ورود به بخش سیاه دستگاه یادگیری اجتنابی مهاری به عنوان معیاری برای بررسی میزان حافظه در نظر گرفته می‌شد [۴]. تأخیر ۳۰۰ ثانیه‌ای 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 آزمایش‌ها 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، سالین (۱ میلی‌لیتر بر کیلوگرم) را به صورت درون صفاقی دریافت کردند، در روز آزمون این چهار گروه ۵ دقیقه قبل از آزمون، سالین (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 آکومبنس دریافت کردند. هشت گروه باقی‌مانده 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 آکومبنس این موش‌ها سالین (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) تزریق شد. مقادیر داروها و زمان‌بندی 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 معنی‌دار بودن اختلاف بین گروه‌های آزمایشی، از تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون مقایسات چندگانه TUKEY استفاده گردید [۱۳] و در تمام آزمایشات $p<۰/۰۵$ به عنوان تفاوت معنادار بین گروه‌ها در نظر گرفته شد. برای انجام تجزیه و تحلیل‌های آماری از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۷ و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار SigmaPlot نسخه ۱۰ استفاده شد.

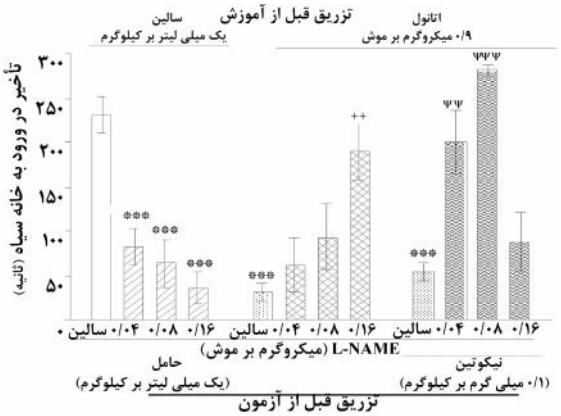
نتایج

در اثر L-NAME در هسته آکومبنس در حضور و غیاب نیکوتین بر روی حافظه اجتنابی مهاری و فراموشی القاء شده با اتانول، آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد تزریق قبل از آزمون L-NAME به هسته آکومبنس به تنهایی باعث تخریب حافظه اجتنابی مهاری می‌شود [$F_{(۳، ۲۸)}=۱۵/۹۳$، $p<۰/۰۰۱$]. آزمون مقایسات زوجی TUKEY نشان داد که مقادیر مختلف L-NAME (۰/۱۶، ۰/۰۸، ۰/۰۴ میکروگرم بر موش) تخریب معنی‌داری در حافظه اجتنابی مهاری ایجاد می‌نمایند (نمودار ۱ ـ 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 آکومبنس می‌تواند حافظه تخریب شده توسط تزریق قبل از آموزش اتانول را اصلاح نماید

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1393.13.5.1.0]

[F(۳ ،۲۸)=۵/۵۱ ،p=۰/۰۰۴] (نمودار ۱ـ 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 می‌نماید [p<۰/۰۰۱، F (۳ ،۲۸)=۱۶/۵۳]، به گونه‌ای که در این حالت دوزهای ۰/۸ و ۰/۴ میکروگرم بر موش L-NAME قادر به اصلاح فراموشی القاء شده با اتانول روز آموزش می‌باشند (نمودار ۱ ـ سمت چپ).



نمودار ۱- اثر L-NAME به تنهایی و همراه با نیکوتین در هسته آکومبنس بر حافظه اجتنابی مهاری و در فراموشی القاء شده با اتانول. نتایج به صورت انحراف استاندارد میانگین ± میانگین برای هشت سر موش می‌باشد، برای مقایسه میانگین‌ها 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، +: p<۰/۰۵ در مقایسه با اتانول/ سالین و ϕϕϕ p<۰/۰۰۱ و ϕϕ: p<۰/۰۱۰ در مقایسه با اتانول/ نیکوتین می‌باشد.

بحث

اتانول و نیکوتین هر دو مسیر مزولیمبیک پاداش را در مغز فعال کرده و باعث ایجاد لذت می‌گردند و در نتیجه تمایل به مصرف مجدد این مواد در فرد به واسطه تقویت مثبت افزایش می‌یابد [۵]. مطالعات همچنین نشان می‌دهد که برخی از اثرات اتانول و نیکوتین به واسطه سیستم نیتریک‌اکساید میانجی‌گری می‌گردد و بین سیستم نیتریک‌اکساید با اتانول و نیکوتین برهمکنش وجود دارد [۱۵]. اتانول قادر به مهار گیرنده‌های NMDA می‌باشد و از این طریق باعث کاهش تولید نیتریک‌اکساید می‌گردد [۱۶]. در حالی که نیکوتین اثر ضد اتانول بر روی نیتریک‌اکساید دارد و می‌تواند به واسطه افزایش آزادسازی گلوتامات از نورون‌های گلوتاماترژیک و فعال‌تر نمودن گیرنده‌های NMDA باعث افزایش تولید نیتریک‌اکساید گردد [۶]. شواهد فوق نشان می‌دهد که در زمینه یادگیری اجتنابی غیر فعال بین اتانول، نیکوتین و نیتریک‌اکساید احتمال وجود برهمکنش وجود دارد.

با توجه به این که در مطالعات پیشین اثر مخرب اتانول بر حافظه اجتنابی مهاری 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 می‌باشد [۱۷]، در این مطالعه اثر تزریق پیش از آزمون L-NAME (مهار کننده نیتریک‌اکساید سنتاز) در هسته آکومبنس، در میانجی‌گری اثرات اصلاحی نیکوتین در فراموشی القاء شده با اتانول مورد بررسی قرار می‌گیرد.

مطالعات پیشین نشان می‌دهد که اتانول قادر به تخریب حافظه [۱۸] و القاء یادگیری وابسته به وضعیت [۱۹] می‌باشد [۲۰]. همچنین نیکوتین روز آزمون نیزهمانند اتانول روز آزمون باعث بهبود حافظه تخریب شده با اتانول روز آموزش می‌شود [۶]. مطالعات Moshfegh و همکاران نشان می‌دهد که اتانول با دوز ۰/۹ گرم بر کیلوگرم قادر به تخریب حافظه اجتنابی مهاری در موش صحرایی و القاء یادگیری وابسته به وضعیت می‌باشد [۲۱] و نیکوتین ۰/۵ و ۰/۲۵ میکروگرم در هسته آکومبنس قادر به اصلاح حافظه تخریب شده با اتانول می‌باشد ولی دوز ۰/۱ میکروگرم بر موش نیکوتین به عنوان دوز غیر مؤثر عمل

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-03-29]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1393.13.5.1.0]

کرده و به تنهایی قادر به اصلاح حافظـه تخریـب شـده بـا اتانول نمی‌باشد [۲۱].

نیکوتین و اتانول هر دو آزادسازی دوپامین را در نواحی هدف مسیر مزولیمبیک به ویژه هسته آکومبنس 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 آکومبنس افزایش می‌دهد که این افزایش دوپامین به ویژه در بخش قشری هسته آکومبنس رخ می‌دهد [۲۲]. به علاوه تزریق موضعی نیکوتین به داخل ناحیه تگمنتوم شکمی [۲۳] یا هسته آکومبنس [۲۴] نیز آزاد شدن دوپامین را در هسته آکومبنس افزایش می‌دهد. در این مطالعه نقش سیستم نیتریک‌اکساید در هسته آکومبنس 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 آکومبنس قادر به بهبود حافظه تخریب شده با اتانول روز آموزش می‌باشد، جالب‌تر این که به کار بردن هم زمان 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 مهاری تخریب شده با اتانول می‌گردد. این یافته‌ها نشان‌دهنده برهمکنش بین سیستم نیکوتینی و نیتریک‌اکسایدی در زمینه حافظه اجتنابی مهاری در هسته آکومبنس 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 گابائرژیکی می‌باشد که از هسته آکومبنس و پالیدیوم شکمی به ناحیه تگمنتوم شکمی می‌باشد [۲۵]. فعال شدن این نورون‌های گابائرژیک 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 آکومبنس باعث کاهش آزادسازی گلوتامات در هسته آکومبنس می‌شود، در نتیجه از میزان فعالیت نورون‌های گابائرژیکی که محتوی گیرنده NMDA می‌باشند و از هسته آکومبنس 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 آکومبنس افزایش می‌یابد. با توجه به این که تزریق نیکوتین به هسته آکومبنس 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 یافته ها و شواهد پیشین نشان می‌دهد که سیستم نیتریک‌اکساید مستقیماً و یا به واسطه آزادسازی گلوتامات [۲] هسته آکومبنس نورون‌های پایین رو گابائرژیک 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

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1393.13.5.1.0]

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 آکومبنس در میانجی‌گری اثرات اصلاحی نیکوتین بر روی فراموش القاء شده با اتانول دخیل می‌باشد. 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 آکومبنس باعث بهبود حافظه اجتنابی مهاری می‌شود.

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 harmane-induced amnesia in the step-down passive avoidance test. *Eur J Pharmacol* 2010; 634(1-3): 77-83.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1393.13.5.1.0]

[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, 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* 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 α2-adrenegic 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

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1393.13.5.1.0]

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.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1393.13.5.1.0]

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

M. Piri[1], A. Moshfegh[2], N. Raoufi[2], MS. Shahin[3]

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 RafsanjanUniv 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

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2024-03-29]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1393.13.5.1.0]