



تأثیر اتانول بر فراموشی و یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با اسکوپولامین در موش سوری نر

الهام حاجی زاده^۱، شیوا خضری^۱، مرتضی پیری^{۲*}

۱- دانشگاه ارومیه، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی، ارومیه، ایران

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اردبیل، گروه زیست‌شناسی، اردبیل، ایران

مسئول مکاتبات: biopiri@iauardabil.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۰/۲۸

تاریخ دریافت: ۹۲/۷/۱۹

چکیده

مطالعات قبلی نشان می‌دهد که اتانول و اسکوپولامین باعث القاء فراموشی و یادگیری وابسته به وضعیت می‌شوند. بر اساس این یافته‌ها در مطالعه حاضر اثر اتانول بر فراموشی و یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با اسکوپولامین در تکلیف ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه تجربی از موش کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMRI استفاده شد. موش‌ها بیهوش شدند و کانول گذاری دوطرفه در ناحیه CA1 هیپوکامپ پستی با استفاده از روش استریوتاکسی انجام شد. بعد از طی دوره بهبودی هفت روزه، اثر اتانول بر روی فراموشی و یادگیری وابسته به وضعیت اسکوپولامین در موش‌های کوچک آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. تزریق قبل از آموزش اسکوپولامین به داخل ناحیه CA1 باعث القاء فراموشی شد. تزریق قبل از آموزش اسکوپولامین به داخل ناحیه CA1 باعث القاء فراموشی شد. تزریق قبل از آزمون اسکوپولامین یا اتانول باعث برگشت فراموشی القاء شده با اسکوپولامین قبل از آموزش شد. تزریق قبل از آزمون اتانول خود باعث تخریب حافظه شد ولی اثر اصلاحی اسکوپولامین روز آزمون را بر روی فراموشی القاء شده توسط اسکوپولامین روز آموزش را تقویت نمود. این یافته‌ها نشان می‌دهند که اتانول می‌تواند یادگیری وابسته به وضعیت اسکوپولامین را در هیپوکامپ پستی تحت تأثیر قرار دهد. بعلاوه این داده‌ها پیشنهاد کننده یادگیری وابسته به وضعیت متقابل بین اتانول و اسکوپولامین در هیپوکامپ پستی موش کوچک آزمایشگاهی می‌باشند.

کلمات کلیدی: اتانول، اسکوپولامین، ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع، یادگیری وابسته به وضعیت، موش سوری

مقدمه

کولین استراز که جلوی تخریب استیل کولین در فضای سیناپسی را می‌گیرند و پایداری استیل کولین را در فضای سیناپسی افزایش می‌دهند باعث بهبود عملکرد شناختی در جوندگان و انسان می‌شوند در حالیکه داروهای آنتی کولینرژیک حافظه و یادگیری را در مدل‌های مختلف یادگیری تخریب می‌نمایند [۳۲]. به عنوان نمونه اسکوپولامین که یک آنتاگونیست گیرنده موسکارینی کولینرژیک می‌باشد باعث تخریب حافظه در مدل‌های مختلف یادگیری می‌شود [۱، ۱۲، ۱۷]. شواهد موجود نشان می‌دهد که شباهت‌های زیادی بین نقص حافظه‌ای ایجاد شده در بیماران مبتلا به آلزایمر و حیوانات تیمار شده با اسکوپولامین وجود دارد به گونه‌ای که از اسکوپولامین

یادگیری وابسته به وضعیت پدیده‌ای است که در آن به یاد آوردن اطلاعات تازه کسب شده تنها در شرایطی صورت می‌گیرد که فرد از لحاظ حسی و فیزیولوژیکی در همان شرایطی قرار گیرد که اطلاعات در همان شرایط کد شده است [۱۰، ۱۶، ۲۸]. شواهد موجود نشان می‌دهند که هیپوکامپ و بقیه قسمت‌های دستگاه لیمبیک در یادگیری وابسته به وضعیت نقش کلیدی دارند [۱، ۲۰، ۳۳]. هیپوکامپ ورودی‌های کولینرژیک را از سپتوم دریافت می‌دارد و نقش مهمی در انواع مختلف حافظه و یادگیری دارد [۱۵]. اهمیت سیستم کولینرژیک هیپوکامپ در انواع مختلف حافظه و یادگیری نیز قبلاً نشان داده شده است [۵]. شواهد موجود نشان می‌دهد که مهارکننده‌های استیل



این فرضیه مورد آزمون قرار گرفته و تأثیر اتانول بر روی فراموشی و یادگیری وابسته به وضعیت اسکوپولامین مورد بررسی قرار می‌گیرد. با توجه به اهمیت وجود وضعیت یکسان در روز آموزش و آزمون به منظور یادآوری اطلاعات طی پدیده یادگیری وابسته به وضعیت، این احتمال وجود دارد که اتانول و اسکوپولامین از طریق مکانیسم‌های متفاوت شرایط یکسانی را در هیپوکامپ در روز آموزش و آزمون ایجاد نمایند و از این طریق باعث بروز یادگیری وابسته به وضعیت متقابل بین اتانول و اسکوپولامین گردند.

مواد و روش کار

در این مطالعه تجربی از موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMRI (وزن تقریبی ۳۰-۲۲ گرم) که از انستیتو پاستور ایران تهیه شد استفاده گردید. حیوان‌ها بعد از انتقال به حیوانخانه تحقیقاتی در قفس‌های ده تایی با دوره شبانه روزی طبیعی (۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی) و در دمای 22 ± 3 درجه سانتی‌گراد، با آب و غذای کافی نگهداری شدند. در هر سری آزمایش ده سر موش استفاده شد.

دستگاه ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع و نحوه انجام تست رفتاری: ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع دستگاهی است که به‌طور وسیعی در مطالعات، از آن برای بررسی اضطراب و حافظه استفاده شده است [۳، ۷]. این دستگاه ماز دارای چهار بازوی چوبی به ابعاد 50×10 سانتی‌متر بوده که به حالت + قرار گرفته‌اند و در محل تقاطع مربعی به ضلع 10×10 سانتی‌متری ایجاد کرده‌اند. دو بازوی روبرو دارای دیوارهای جانبی و انتهایی می‌باشند. اما دو بازوی دیگر هیچ دیواره‌ای ندارند. دستگاه به میزان ۵۰ سانتی‌متر از زمین ارتفاع دارد. برای انجام آزمون حافظه در روز آموزش (روز اول) و روز آزمون (روز دوم) موش‌ها در انتهای بازوی باز قرار داده می‌شوند و مدت زمانی که طول می‌کشد که موش‌ها برای اولین بار وارد بازوی بسته

برای ایجاد مدل حیوانی بیماری آلزایمر در مطالعات فارماکولوژیکی استفاده می‌شود [۲]. شواهد بدست آمده از مطالعات تجربی همچنین نشان می‌دهد که عملکرد نورون-های کولینرژیک بویژه در هیپوکامپ در طی یادگیری تغییر می‌کند و این نورون‌ها در هنگام یادگیری فعالتر از حالت استراحت می‌گردند، به گونه‌ای که شواهد موجود نشان می‌دهد که آزادسازی استیل کولین در هیپوکامپ در طی یادگیری فضایی افزایش می‌یابد [۳۰]. شواهد موجود همچنین نشان می‌دهد که این فعال شدن و افزایش رهایش استیل کولین در نواحی کلیدی دخیل در حافظه نظیر هیپوکامپ همبستگی مثبتی با میزان یادگیری دارد [۸].

از طرف دیگر به خوبی مشخص شده است که اتانول باعث تخریب حافظه و یادگیری در حیوانات آزمایشگاهی می‌شود [۲۱-۲۵]. مطالعات متعدد نشان می‌دهد که اتانول اثرات مختلف خود را با اثر مستقیم یا غیرمستقیمی که روی سیستم‌های نوروترانسمیتری مختلف بویژه استیل کولین، دوپامین، پپتیدهای اپیوئیدی و نورترانسمیتری‌های آمینو اسیدی می‌گذارد، اعمال می‌نماید [۲۶]. شواهد موجود نشان می‌دهد که سیستم کولینرژیک در میانجی‌گری اثرات مخرب اتانول بر حافظه اجتنابی مهاري دخیل می‌باشد و اثر مخرب اتانول بر حافظه اجتنابی مهاري ناشی از اختلال در سیستم کولینرژیک مغز می‌باشد [۲۳]. مشخص شده که اتانول می‌تواند رهایش استیل کولین در هیپوکامپ را کاهش دهد. از سوی دیگر مطالعات تجربی پیشنهاد می‌نمایند که اثرات اتانول بر روی حافظه می‌تواند در اثر تأثیر اتانول بر هیپوکامپ بروز نماید و حتی مصرف حاد اتانول می‌تواند نورفیزیولوژی هیپوکامپ را تغییر دهد [۹].

با توجه به اینکه اتانول و اسکوپولامین هر دو باعث تخریب حافظه اجتنابی مهاري می‌شوند و هر دو قادر به یادگیری وابسته به وضعیت می‌باشند و در نظر داشتن این موضوع که اتانول بواسطه کاهش رهایش استیل کولین در هیپوکامپ و اسکوپولامین بواسطه مهار گیرنده‌های موسکاربینی استیل کولین باعث تضعیف سیستم کولینرژیک در هیپوکامپ پستی می‌گردد. در این مطالعه برای اولین بار



در این تحقیق داروهای اسکوپولامین که به عنوان آنتاگونیست گیرنده‌های موسکارینی استیل کولین عمل می‌نماید (تاکریس، آمریکا) و اتانول (مرک، آلمان) مورد استفاده قرار گرفت است. تزریق اتانول بصورت درون صفاقی ولی تزریق اسکوپولامین به صورت درون مغزی داخل هیپوکامپ پستی انجام شد.

روش جراحی و کانول گذاری در ناحیه هیپوکامپ پستی (CA1): موش‌های کوچک آزمایشگاهی توسط تزریق کتامین هیدروکلرید (۱۰۰ میلی‌گرم بر کلیوگرم) بعلاوه گریل‌زین (۱۰ میلی‌گرم بر کلیوگرم) بی‌هوش شدند. بعد از بیهوشی حیوانات در دستگاه استریوتاکسی قرار داده شدند و دو کانول راهنما (اندازه ۲۲) یک میلی-متر بالاتر از محل تزریق، بر اساس اطلس پاکسینوس (۲۰۰۱) قرار داده شد. مختصات ناحیه CA1 هیپوکامپ پستی عبارت بود از: $AP = -2$ ، $ML = \pm 1/6$ ، $ML = -1/5$ ، $V [11]$. بعد از قرار دادن کانول در مختصات مورد نظر با استفاده از سیمان دندان پزشکی کانول‌های راهنما در جای خود محکم شدند. پس از جراحی و قبل از تزریق درون مغزی دارو، به حیوان اجازه داده شد ۵ تا ۷ روز دوره بهبودی پس از جراحی را به منظور رفع استرس و تخریب بافتی احتمالی توسط جراحی سپری کرده به حالت عادی خود برگردند.

تزریق درون مغزی دارو: تزریق اتانول به صورت درون صفاقی انجام شد ولی اسکوپولامین به صورت درون مغزی به هیپوکامپ پستی تزریق شد. برای تزریق اسکوپولامین پس از برداشتن سیم داخل کانول راهنما، سر سوزن دندانپزشکی شماره ۲۷ که ۹ میلی‌متر طول داشت و به کت دان تیوب نوزاد (شماره ۴) متصل بود، در داخل کانول راهنما شماره ۲۲ قرار داده شد و در هر کانول ۰/۵ میکرولیتر دارو در مدت ۹۰-۶۰ ثانیه تزریق شد. تزریق ۰/۵ میکرولیتر دارو در مدت ۹۰-۶۰ ثانیه به صورتی دستی کنترل می‌شد و به منظور تزریق از سرنگ همیلتون یک میکرولیتری که ساخت کشور سوئیس بود استفاده

شوند مورد اندازه‌گیری قرار می‌گیرد. این مدت زمان اصطلاحاً تاخیر در عبور از بازوی باز به بسته نامیده می‌شود. با توجه به اینکه موش‌ها بدلیل ارتفاع و روشن بودن از بازوی باز اجتناب می‌نمایند، تمایل دارند تا به بازوی بسته پناه برند. هر چه حیوان دفعات بیشتری در دستگاه قرار گیرد و حافظه بهتری داشته باشد، چون محیط امن بازوی بسته را به خاطر می‌آورد، تاخیرش در ورود به بازوی بسته کاهش می‌یابد. اگر حیوان حافظه خوبی داشته باشد روز دوم سریعتر از روز اول وارد بازوی بسته می‌شود، ولی اگر حافظه حیوان بدلیل تزریق دارویی تخریب شده باشد، چون محیط امن بازوی بسته را به خاطر ندارد، سرعت ورودش در روز دوم نسبت به روز اول چندان تفاوتی نخواهد داشت. در این مطالعه به مانند بسیاری از مطالعات پیشین که از ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع برای سنجش حافظه استفاده شده است از فاکتوری به نام درصد کوتاه شدن تاخیر در ورود به بازوی بسته استفاده شد که با استفاده از فرمول زیر بدست می‌آید [۴، ۷]. در این فرمول **Transfer latency 1** بیانگر میزان تاخیر حیوان در ورود به بازوی بسته در روز اول یعنی روز آموزش می‌باشد و **Transfer latency 2** بیانگر میزان تاخیر حیوان در ورود به بازوی بسته در روز دوم یعنی روز آزمون می‌باشد.

$$\text{Transfer latency shortening} = \frac{\text{Transfer latency 1} - \text{transfer latency 2}}{\text{transfer latency 1}} \times 100$$

هرچه این در صد بالاتر باشد نشان می‌دهد که میزان تاخیر در ورود به بازوی بسته در روز دوم نسبت به روز اول کوتاهتر شده است و حیوان از حافظه بهتری برخوردار می‌باشد. بالعکس زمانی که درصد بدست آمده کوچکتر باشد نشان می‌دهد که در روز دوم کاهش چندان نسبت به روز اول در میزان تاخیر در ورود به بازوی سیاه وجود ندارد و در واقع نشان می‌دهد که جاندار تجربه روز آموزش را به یاد ندارد [۴، ۷].



شد. در طول تزریق به حیوان اجازه داده شد بدون هیچ استرسی آزادانه حرکت کند.

بافت‌شناسی: پس از کشتن حیوان‌ها توسط کلروفرم، ۰/۵ میکرولیتر رنگ متیلن بلو ۱ درصد به داخل هر کانول تزریق شد، سپس مغز از درون جمجمه بیرون آورده شده و 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 و محل ورود کانول به مغز به وسیله میکروسکوپ لوپ مورد مطالعه قرار گرفت. جهت مطالعه مقاطع بافتی تهیه شده از اطلس پاکسینوس استفاده شد (شکل ۱).

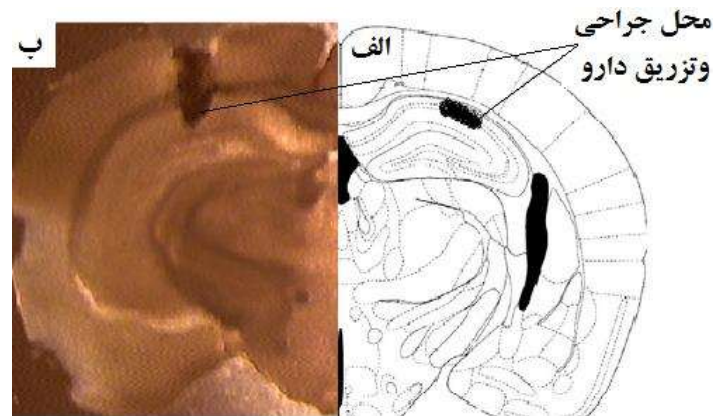
تأثیر اسکوپولامین بر حافظه در مدل ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع: در این آزمایش برای بررسی تأثیر اسکوپولامین بر روی حافظه از هشت گروه حیوان استفاده شد. در چهار گروه اول ۵ دقیقه قبل از آموزش مقادیر مختلف اسکوپولامین (۰، ۰/۷۵، ۱/۵ و ۳ میکروگرم بر موش) به ناحیه هیپوکامپ پستی تزریق شد و در روز آزمون ۵ دقیقه قبل از آزمون سالین به ناحیه هیپوکامپ پستی تزریق شد. چهار گروه باقیمانده ۵ دقیقه قبل از آموزش دوز مؤثر اسکوپولامین (۳ میکروگرم بر موش) را به صورت درون مغزی (داخل هیپوکامپ پستی) دریافت کردند و در روز آزمون مقادیر مختلف اسکوپولامین (۰، ۰/۷۵، ۱/۵ و ۳ میکروگرم بر موش) را ۵ دقیقه قبل از آزمون به صورت درون مغزی (داخل هیپوکامپ پستی) دریافت کردند.

تأثیر تزریق قبل از آزمون اتانول بر روی حافظه اجتنابی مهارتی و یادگیری وابسته به وضعیت اسکوپولامین با استفاده از ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع: در این آزمایش برای بررسی اثر اتانول بر روی حافظه از دوازده گروه

حیوان استفاده شد، چهار گروه اول ۵ دقیقه قبل از آموزش، سالین را به صورت درون مغزی (داخل هیپوکامپ پستی) دریافت کردند و در روز آزمون، مقادیر مختلف اتانول (۰، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ گرم بر کیلوگرم) را به صورت درون صفاقی ۳۰ دقیقه قبل از آزمون دریافت داشتند. چهار گروه بعدی در روز آموزش، ۵ دقیقه قبل از آموزش دوز مؤثر اسکوپولامین (۳ میکروگرم بر موش) را دریافت کردند و در روز آزمون مقادیر مختلف اتانول (۰، ۰/۷۵، ۱/۵ و ۳ میکروگرم بر موش) را به صورت درون صفاقی ۳۰ دقیقه قبل از آزمون دریافت داشتند. چهار گروه آخر نیز در روز آموزش دوز مؤثر اسکوپولامین (۳ میکروگرم بر موش) را به صورت درون مغزی در داخل هیپوکامپ پستی ۵ دقیقه قبل از آموزش دریافت کردند ولی این چهار گروه در روز آزمون ابتدا مقادیر مختلف اتانول (۰، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میکروگرم بر موش) را ۳۰ دقیقه قبل از آزمون دریافت داشتند و سپس مقدار مختلف اسکوپولامین (۰/۷۵ میکروگرم بر موش) را به صورت درون مغزی در ناحیه هیپوکامپ پستی ۵ دقیقه قبل از آزمون دریافت داشتند.

نتایج

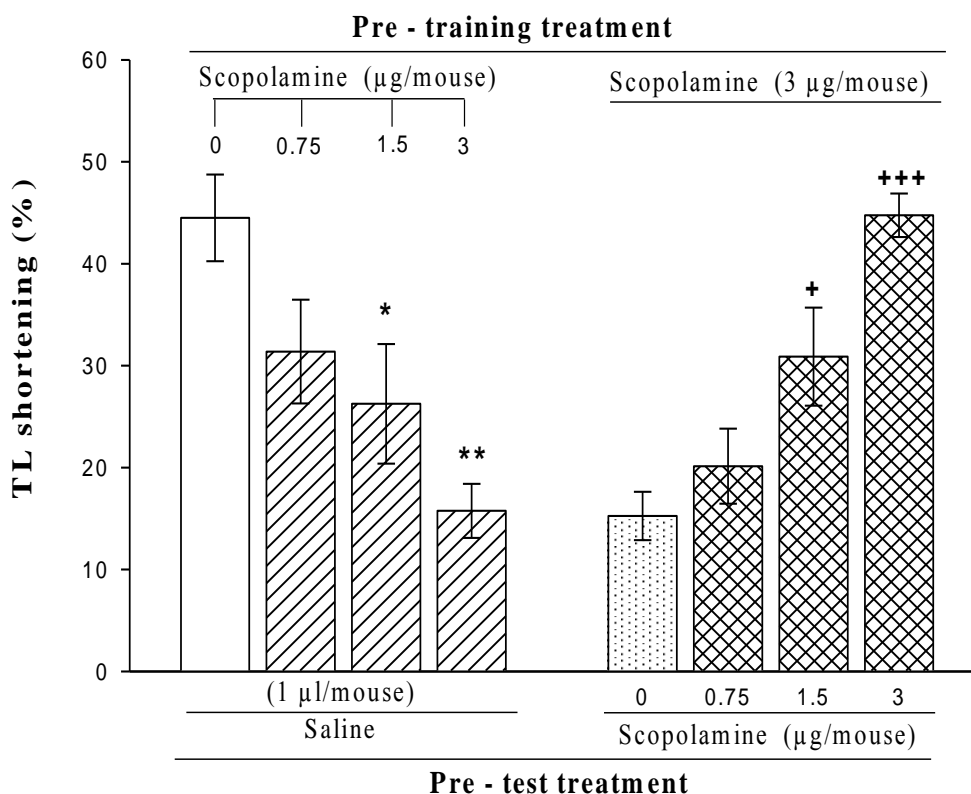
شکل ۱ مقطع بافتی مربوط به ناحیه CA1 هیپوکامپ پستی که نشان دهنده محل قرارگیری صحیح کانول در مقایسه با شکل شماتیک برگرفته از اطلس پاکسینوس می‌باشد را نمایش می‌دهد. لازم به ذکر است که تنها داده‌های مربوط به حیواناتی که محل جراحی آنها در مقایسه با اطلس پاکسینوس صحیح بود در آنالیز آماری مورد استفاده قرار گرفت (شکل ۱).



شکل ۱- شکل شماتیک بر گرفته از اطلس پاکسینوس که ناحیه CA1 در آن مشخص شده است (الف) و عکس مقطع بافتی مربوط به کانول گذاری در ناحیه CA1 هیپوکامپ پستی (ب).

قبل از آزمون به ناحیه هیپوکامپ پستی موش‌هایی که در روز آموزش نیز تحت تأثیر دوز مؤثر اسکوپولامین (۱/۵ میکروگرم بر موش) بوده‌اند، قادر می‌باشد که کاهش القاء شده در درصد کوتاه شدن تاخیر عبور به بازوی بسته را اصلاح نماید که این یافته نشان‌دهنده این است که اسکوپولامین روز آزمون قادر به اصلاح حافظه تخریب شده با اسکوپولامین روز آموزش می‌باشد، به بیان دیگر اسکوپولامین قادر به ایجاد یادگیری وابسته به وضعیت می‌باشد [$F(28, 3) = 14/62, p < 0/001$] (نمودار ۱ - پانل راست).

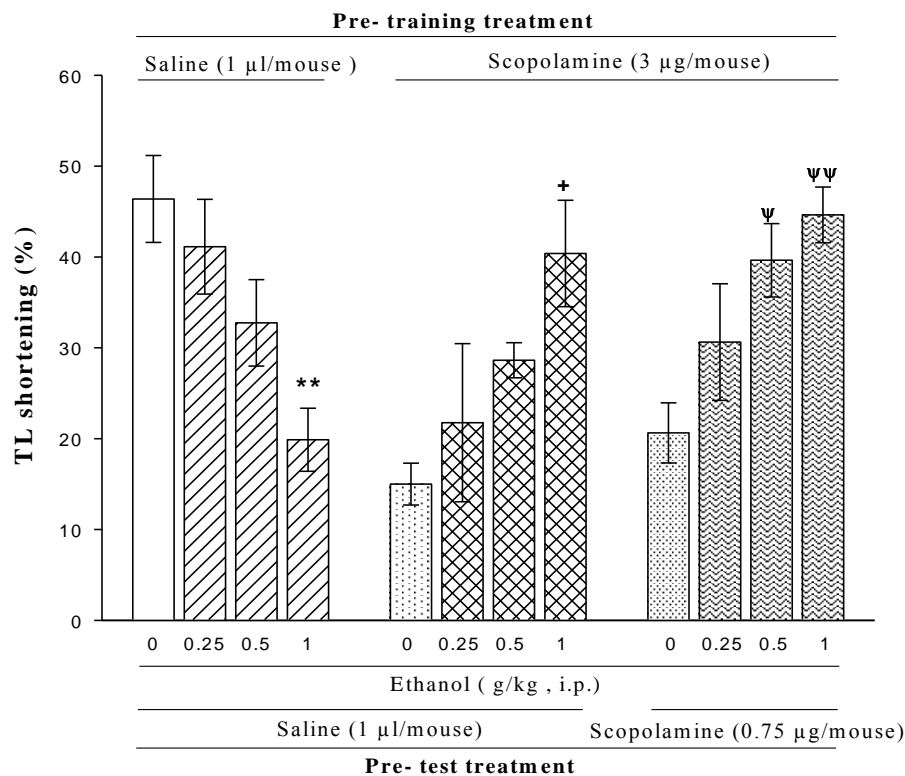
تأثیر اسکوپولامین در هیپوکامپ پستی بر روی حافظه اجتنابی مهارتی ثبت شده با ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع در موش‌های سوری: آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون مکمل توکی نشان می‌دهد که تزریق قبل از آموزش اسکوپولامین (۱/۵ و ۳ میکروگرم بر موش) به ناحیه هیپوکامپ پستی موش‌های سوری درصد کوتاه شدن تاخیر عبور به بازوی بسته را بطور معنی‌دار کاهش می‌دهد که این نشان‌دهنده اثر مخرب اسکوپولامین در ناحیه هیپوکامپ پستی بر حافظه اجتنابی مهارتی در مدل ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع می‌باشد [$F(3, 28) = 6/67, p < 0/01$] (نمودار ۱- پانل چپ)، بعلاوه تزریق اسکوپولامین (۱/۵ و ۳ میکروگرم بر موش)



نمودار ۱ - اثر اسکوپولامین در هیپوکامپ پستی بر حافظه اجتنابی مھاری در مدل ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع. $P^{**} < 0.01$ ، $P^* < 0.05$ در مقایسه با گروه سالین/سالین و $P < 0.05$ و $P < 0.001$ در مقایسه با اسکوپولامین/سالین می‌باشد.

کاهش القاء شده در درصد کوتاه شدن تاخیر عبور به بازوی بسته را اصلاح نماید که این یافته نشان دهنده این است که اتانول روز آزمون قادر به اصلاح حافظه تخریب شده با اسکوپولامین روز آموزش می‌باشد [$p < 0.05$]. همچنین نتایج $F(28, 3) = 3.93$ (نمودار ۲- پانل وسط). همچنین نتایج ما نشان می‌دهد که بکاربردن دوز غیرمؤثر اسکوپولامین (۰/۷۵ میکروگرم بر موش) همراه با مقادیر مختلف اتانول اثر اصلاحی اتانول روز آزمون را بر روی حافظه تخریب شده با اسکوپولامین را تقویت می‌نماید، به گونه ای که در این حالت اتانول (۱ و ۰/۵ گرم بر کیلوگرم) قادر به اصلاح فراموشی القاء شده با اتانول می‌باشند [$p < 0.01$ ، $p = 5.72$ ، $F(28, 3)$ (نمودار ۲- پانل راست).

تأثیر تزریق قبل از آزمون اتانول بر روی حافظه اجتنابی مھاری و یادگیری وابسته به وضعیت اسکوپولامین با استفاده از ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع: آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون مکمل توکی نشان می‌دهد که تزریق قبل از آزمون اتانول (۱ گرم بر کیلوگرم) به موش‌های سوری درصد کوتاه شدن تاخیر عبور به بازوی بسته را بطور معنی‌دار کاهش می‌دهد که این یافته نشان دهنده اثر مخرب اتانول در روز آزمون بر حافظه اجتنابی مھاری در ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع می‌باشد [$p < 0.01$ ، $p = 6.30$ ، $F(28, 3)$ (نمودار ۲- پانل چپ)، بعلاوه تزریق قبل از آزمون اتانول (۱ گرم بر کیلوگرم) به موش‌هایی که در روز آموزش اسکوپولامین (۳ میکروگرم بر موش) به ناحیه هیپوکامپ پستی آنها تزریق شده است، قادر می‌باشد که



نمودار ۲ - اثر اتانول بر حافظه اجتنابی مهارى و فراموشى و يادگيرى وابسته به وضعيت القاء شده با اسکوپولامين در مدل ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع. $P^{**} < 0/01$ در مقایسه با گروه سالین/سالین، $P < 0/05$ + در مقایسه با اسکوپولامين/سالین و $P < 0/01$ ، $\Psi\Psi$ در مقایسه با اسکوپولامين می‌باشد.

بحث

یا عملکرد ناقص نورون‌های کولینرژیک ارتباط تنگاتنگی با نقص‌های شناختی ایجاد شده در بیماران آلزایمری دارد [۶]. با وجود اینکه اثر مخرب اسکوپولامين بر روی حافظه اجتنابی مهارى در مطالعات پیشین گزارش شده است، اما این مطالعه اولین مطالعه‌ای می‌باشد که در آن برای سنجش اثر مخرب اسکوپولامين بر حافظه اجتنابی مهارى از ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع استفاده شده است. در دستگاه ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع که دارای دو بازوی باز و دو بازوی بسته می‌باشد، موش بدلیل ارتفاع، فضای باز و روشنایی بازوی باز از بازوی بسته اجتناب کرده و وارد بازوی بسته می‌شود و هر چه تعداد دفعاتی که حیوان در دستگاه ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع قرار می‌گیرد، بیشتر باشد، چون محیط امن بازوی بسته را به خاطر می‌آورد، سریعتر وارد بازوی بسته می‌گردد. این روش سنجش

یافته‌های ما در این مطالعه نشان می‌دهد که تزریق اسکوپولامين به داخل ناحیه‌ی CA1 هیپوکامپ پشتی پیش از آموزش باعث تخریب حافظه‌ی اجتنابی مهارى در مدل ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع می‌باشد. نتایج مطالعه حاضر موافق با مطالعاتی می‌باشد که گزارش می‌نمایند استیل کولین یک میانجی عصبی مهم در زمینه‌ی حافظه و یادگیری می‌باشد [۳۱]. مطالعات فارماکولوژی متعدد نشان می‌دهند که اسکوپولامين باعث تخریب حافظه و یادگیری در مدل‌های مختلف یادگیری می‌شود و این تخریب مستقیماً با کاهش عملکرد سیستم کولینرژیک در ارتباط می‌باشد [۱، ۱۲، ۱۷]. در بسیاری از مطالعات رفتاری صورت گرفته نشان داده شده است که اثرات آنتاگونیست موسکارینی کولینرژیک بسیار مشابه اثرات ایجاد شده توسط تخریب هیپوکامپ می‌باشد [۳۱]. همچنین تخریب



حافظه یک برتری بزرگ نسبت به روش‌های دیگر سنجش حافظه اجتنابی مهارت نظیر روش **Step-down** و **Step-through** دارد. در این روش‌ها از شوک برای ایجاد اجتناب استفاده می‌گردد و ممکن است بدلائل مختلف نظیر کثیف بودن میله‌های دستگاه، کثیف بودن کف پای موش، مرطوب بودن میله و میزان شوک دریافت شده توسط حیوانات مختلف یکسان نباشد، اما وقتی که حافظه اجتنابی مهارت با مدل ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع سنجیده می‌شود، برای ایجاد اجتناب از ارتفاع، فضای باز و روشنایی بازوی باز استفاده می‌شود که برای همه موش‌ها حالت یکسانی دارد [۴، ۷]. نتایج ما در این مطالعه همچنین نشان می‌دهد که فراموشی القاء شده با تزریق پیش از آموزش اسکوپولامین به داخل هیپوکامپ پشتی به طور کامل با تزریق همان مقدار اسکوپولامین قبل از آزمون مهارت می‌گردد. مشابه این پاسخ برای مورفین [۳۴]، کانابینوئیدها [۱۴] و اتانول [۲۲] مشاهده می‌شود که به آن یادگیری وابسته به وضعیت گفته می‌شود [۱۸، ۱۹]. این تجربه نشان می‌دهد که یک داروی واحد در شرایط مختلف اثر متفاوتی را اعمال می‌نماید. در گزارشات پیشین هم نشان داده شده که داروهایی نظیر مورفین، کانابینوئیدها و اتانول زمانی که به حیوانات با حافظه کامل تزریق می‌گردند، باعث تخریب حافظه می‌شوند ولی تزریق همین داروها به حیواناتی که دچار فراموشی می‌باشند، باعث بهبود حافظه می‌گردد [۱۸، ۱۹]. این تجربیات نشان‌دهنده اثر دوگانه داروهایی نظیر اسکوپولامین، مورفین، کانابینوئیدها و اتانول می‌باشد [۱۸، ۱۹]. در بخش بعدی این مطالعه اثر اتانول روز آزمون بر روی حافظه اجتنابی مهارت و همچنین اثر اتانول بر روی فراموشی و یادگیری وابسته به وضعیت اسکوپولامین مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌ها ما در این مطالعه نشان می‌دهد که تزریق اتانول در روز آزمون باعث تخریب حافظه اجتنابی مهارت در مدل ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع می‌شود. نتایج این مطالعه همسو با یافته‌های پیشینی می‌باشد که نشان می‌دهند که اتانول باعث تخریب حافظه در

مدل‌های مختلف حافظه می‌شود. شواهد موجود نشان می‌دهد که اتانول اثر مخرب خود بر روی حافظه را با اثر بر روی ناقل‌های عصبی مختلف بویژه استیل کولین، گابا و گلوتامات اعمال می‌نماید [۱۳، ۲۷]. شواهد موجود نشان می‌دهد که اتانول می‌تواند رهایش استیل کولین در هیپوکامپ و قشر مخ را کاهش دهد [۹، ۱۳، ۲۹]. با توجه به اینکه داروهایی که سیستم کولینرژیک را در مغز تقویت می‌نمایند، باعث تسهیل حافظه و موادی که سیستم کولینرژیک را تضعیف می‌نمایند، نظیر آنتاگونیست‌های گیرنده‌های کولینرژیک یا مواد کاهنده رهایش استیل کولین باعث تخریب حافظه می‌گردند [۱]، می‌توان انتظار داشت که بخش اعظمی از اثرات اتانول با کاهش رهایش اتانول بویژه در نواحی کلیدی مؤثر بر تثبیت حافظه نظیر هیپوکامپ بروز نماید. البته تأثیر اتانول بر روی گابا و گلوتامات را نمی‌بایست از نظر دور داشت. شواهد موجود نشان می‌دهند که مصرف اتانول در کوتاه مدت باعث تقویت پیام‌های گابائریک و تضعیف پیام‌های گلوتاماتریک بویژه در هیپوکامپ می‌شود [۲۷]، با توجه به نقش این سیستم‌های نورترانسمیتری در ایجاد تقویت دراز مدت سیناپسی (LTP) می‌توان انتظار داشت که اتانول بواسطه اثر بر روی سیستم‌های گابائریک و گلوتاماتریک باعث اختلال در LTP و تخریب حافظه گردد [۲۷]. نکته جالب‌تر اینکه اتانول علاوه بر اینکه یک اثر مستقیم روی نورون‌های کولینرژیک مدار سپتو-هیپوکامپ دارد و باعث کاهش رهایش استیل کولین می‌شود، می‌تواند بواسطه تقویت پیام‌های گابائریک به صورت غیرمستقیم نیز روی نورون‌های کولینرژیک مدار سپتو-هیپوکامپ اثر کرده و باعث کاهش رهایش استیل کولین در هیپوکامپ گردد [۹، ۱۳، ۲۹].

در بخش بعدی این مطالعه با توجه به برهمکنش‌هایی که بین اتانول و سیستم کولینرژیک گزارش شده است، تأثیر اتانول بر روی فراموشی و یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با اسکوپولامین مورد بررسی قرار گرفت. نتایج ما نشان می‌دهد که تزریق اتانول به موش‌هایی که در روز



آزمون قادر به اصلاح حافظه اجتنابی مهاری می‌باشد. این یافته می‌تواند پیشنهاد کننده این موضوع باشد که بین اتانول و اسکوپولامین احتمالاً یادگیری وابسته به وضعیت متقابل وجود دارد، هر چند قضاوت قطعی در این مورد نیازمند آزمایشات تکمیلی می‌باشد و نیازمند درک این موضوع می‌باشد که آیا به طور متقابل اسکوپولامین نیز قادر به اصلاح فراموشی القاء شده با اتانول طی پدیده یادگیری وابسته به وضعیت می‌باشد.

منابع

- 1- Azami N.S., M. Piri, S. Oryan, M. Jahanshahi, V. Babapour, M.R. Zarrindast (2010), Involvement of dorsal hippocampal alpha-adrenergic receptors in the effect of scopolamine on memory retrieval in inhibitory avoidance task. *Neurobiology of Learning and Memory*, 93(4): 455-62.
- 2- Bartus R.T. (2000), On neuro degenerative diseases, models, and treatment strategies: lessons learned and lessons forgotten a generation following the cholinergic hypothesis. *Experimental Neurology*, 163(2): 495-529.
- 3- Biala G., M. Kruk (2008), Calcium channel antagonists suppress cross-tolerance to the anxiogenic effects of D-amphetamine and nicotine in the mouse elevated plus maze test. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 32(1): 54-61.
- 4- Biala G., M. Kruk (2008), Cannabinoid receptor ligands suppress memory-related effects of nicotine in the elevated plus maze test in mice. *Behavioural Brain Research*, 192(2): 198-202.
- 5- Blokland A. (1995), Acetylcholine: a neurotransmitter for learning and memory? *Brain Research and Brain Research Review*, 21(3): 285-300.
- 6- Coyle J.T., D.L. Price, M.R. DeLong (1983), Alzheimer's disease: a disorder of

آموزش تحت تأثیر اسکوپولامین بوده‌اند، باعث بهبود حافظه تخریب شده با اسکوپولامین می‌گردد. این یافته نشان می‌دهد که اتانول روز آزمون قادر به تقلید عملکرد اسکوپولامین روز آزمون می‌باشد. با توجه به اینکه در یادگیری وابسته به وضعیت تنها اطلاعاتی به یاد آورده می‌شوند که در همان شرایطی فراخوانی گردند که کد شده اند، می‌توان تصور کرد که اتانول و اسکوپولامین با مکانیسم‌های مختلف شرایط یکسانی را در روز آموزش و آزمون ایجاد کرده‌اند. اسکوپولامین آنتاگونیست گیرنده موسکاربینی می‌باشد و باعث کاهش فعالیت گیرنده‌های موسکاربینی در هیپوکامپ می‌شود. شواهد موجود نشان می‌دهد که اتانول قادر به کاهش رهایش استیل کولین در هیپوکامپ می‌باشد و این کاهش رهایش استیل کولین می‌تواند از فعالیت گیرنده‌های موسکاربینی بکاهد [۹، ۱۳، ۲۹]. با این توضیح مشخص می‌گردد که در نهایت اسکوپولامین و اتانول هر دو می‌توانند از شدت فعالیت گیرنده‌های موسکاربینی بکاهند و شرایط یکسانی را در روز آموزش و آزمون ایجاد نمایند. اگر فرضیه فوق صحیح باشد می‌بایست دوز بی اثر اسکوپولامین قادر به تقویت اثر اصلاحی اتانول بر روی فراموشی القاء شده با اسکوپولامین باشد، لذا در بخش بعدی این مطالعه مقادیر دوز بی اثر اسکوپولامین همراه با مقادیر مختلف اتانول به همراه به حیواناتی تزریق شد که در روز آموزش تحت تأثیر دوز مؤثر اسکوپولامین بوده‌اند. یافته‌های ما مشخص نمود که بکار بردن دوز غیرمؤثر اسکوپولامین به همراه اتانول اثر اصلاحی اتانول روز آزمون را بر روی فراموشی القاء شده با اسکوپولامین را تشدید می‌نمایند. این یافته شاهد دیگری بر فرضیه ارائه شده در این مطالعه می‌باشد.

نتیجه‌گیری

یافته‌های ما در این مطالعه نشان می‌دهد که اسکوپولامین قادر به القاء فراموشی و ایجاد یادگیری وابسته به وضعیت در مدل ماز بعلاوه‌ای شکل مرتفع می‌باشد. همچنین نشان می‌دهد که اتانول روز آزمون به مانند اسکوپولامین روز



- 14- Nasehi M., M. Piri, N. Jamali-Raeufy, M.R. Zarrindast (2010), Influence of intracerebral administration of NO agents in dorsal hippocampus (CA1) on cannabinoid state-dependent memory in the step-down passive avoidance test. *Physiology of Behavior*, 100(4): 297-304.
- 15- Nguyen P.V., T. Abel, E.R. Kandel (1994), Requirement of a critical period of transcription for induction of a late phase of LTP. *Science* (New York, NY, 265(5175): 1104-7.
- 16- Overton D.A. (1978), Basic mechanisms of state-dependent learning. *Psychopharmacol Bull*, 14(1):67-8.
- 17- Pakpour B., S. Ahmadi, T. Nayer-Nouri, S. Oryan, M.R. Zarrindast (2010), Inhibitory avoidance memory deficit induced by scopolamine: interaction with glutamatergic system in the nucleus accumbens. *Behavioral Pharmacology*, 21(8):719-26.
- 18- Pakpour B., S. Oryan, M. Navaeian, T. Saba, M. Piri (2013), Evaluation of the interaction between NMDA receptors of nucleus accumbens and muscarinic receptors in memory. *Journal of Qom University of Medical Science*, 7(1): 1-10.
- 19- Piri M., A. Moshfegh, S. Oryan, M.R. Zarrindast (2010), Influence of dorsal hippocampal $\alpha 2$ -adrenergic receptors on WIN55, 212-2 state-dependent memory of passive avoidance. *Journal of Qom University of Medical Science*, 4(3): 29-36 (Persian).
- 20- Piri M., M.R. Zarrindast (2011), Nitric oxide in the ventral tegmental area is involved in retrieval of inhibitory avoidance memory by nicotine. *Neuroscience*, 175: 154-161.
- 21- Rezayof A., S. Alijanpour, M.R. Zarrindast, Y. Rassouli (2008), Ethanol state-dependent memory: involvement of cortical cholinergic innervation. *Science*, 219(4589): 1184-90.
- 7- Da Cunha I.C., R.F. Jose, L. Orlandi Pereira, J.A. Pimenta, I.A. Oliveira de Souza, R. Reiser, H. Moreno, J. Marino Neto, M.A. Paschoalini, M.S. Faria (2005), The role of nitric oxide in the emotional learning of rats in the plus-maze. *Physiology of Behavior*, 84(3): 351-8.
- 8- Fadda P., L. Robinson, W. Fratta, R.G. Pertwee, G. Riedel (2006), Scopolamine and MK801-induced working memory deficits in rats are not reversed by CBD-rich cannabis extracts. *Behavioural Brain Research*, 168(2): 307-11.
- 9- Henn C., K. Loffelholz, J. Klein (1998), Stimulatory and inhibitory effects of ethanol on hippocampal acetylcholine release. *Naunyn Schmiedebergs Archives of Pharmacology*, 357(6): 640-7.
- 10- Izquierdo I., R.D. Dias (1983), Memory as a state dependent phenomenon: role of ACTH and epinephrine. *Behavioral and Neural Biology*, 38(1):144-9.
- 11- Khakpai F., M. Nasehi, A. Haeri-Rohani, A. Eidi, M.R. Zarrindast (2012), Scopolamine induced memory impairment; possible involvement of NMDA receptor mechanisms of dorsal hippocampus and/or septum. *Behavioural Brain Research*, 231(1):1-10.
- 12- Mahmoodi G., S. Ahmadi, A. Pourmotabbed, S. Oryan, M.R. Zarrindast (2010), Inhibitory avoidance memory deficit induced by scopolamine: Interaction of cholinergic and glutamatergic systems in the ventral tegmental area. *Neurobiology of Learning and Memory*, 94(1):83-90.
- 13- Melis F., R. Stancampiano, A. Imperato, G. Carta, F. Fadda (1996), Chronic ethanol consumption in rats: correlation between memory performance and hippocampal acetylcholine release in vivo. *Neuroscience*, 74(1):155-9.



- 28- Shulz D.E., R. Sosnik, V. Ego, S. Haidarliu, E. Ahissar (2000), A neuronal analogue of state-dependent learning. *Nature*, 403(6769): 549-553.
- 29- Stancampiano R., M. Carta, S. Cocco, R. Curreli, Z.L. Rossetti, F. Fadda (2004), Biphasic effects of ethanol on acetylcholine release in the rat prefrontal cortex. *Brain Research*, 997(1): 128-32.
- 30- Stancampiano R., S. Cocco, C. Cugusi, L. Sarais, F. Fadda (1999), Serotonin and acetylcholine release response in the rat hippocampus during a spatial memory task. *Neuroscience*, 89(4): 1135-1143.
- 31- Watts J., R. Stevens, C. Robinson (1981), Effects of scopolamine on radial maze performance in rats. *Physiology of Behavior*, 26(5): 845-851.
- 32- Zarrindast M.R., A. Bakhsha, P. Rostami, B. Shafaghi (2002), Effects of intrahippocampal injection of GABAergic drugs on memory retention of passive avoidance learning in rats. *Journal of Psychopharmacology*, 16(4): 313-319.
- 33- Zarrindast M.R., M. Dorrani, R. Lachinani, A. Rezayof (2010), Blockade of dorsal hippocampal dopamine receptors inhibits state-dependent learning induced by cannabinoid receptor agonist in mice. *Neuroscience Research*, 67(1): 25-32.
- 34- Zarrindast M.R., A. Rezayof (2004), Morphine state-dependent learning: sensitization and interactions with dopamine receptors. *European Journal of Pharmacology*, 497(2): 197-204.
- dorsal hippocampal muscarinic and nicotinic receptors. *Neurobiology of Learning and Memory*, 89(4): 441-447.
- 22- Rezayof A., T. Motevasseli, Y. Rassouli, M.R. Zarrindast (2007), Dorsal hippocampal dopamine receptors are involved in mediating ethanol state-dependent memory. *Life Science*, 80(4): 285-292.
- 23- Rezayof A., K. Sharifi, M.R. Zarrindast, Y. Rassouli (2008), Modulation of ethanol state-dependent learning by dorsal hippocampal NMDA receptors in mice. *Alcohol*, 42(8): 667-674.
- 24- Rezayof A., Z. Shirazi-Zand, M.R. Zarrindast, T. Nayer-Nouri (2010), Nicotine improves ethanol-induced memory impairment: the role of dorsal hippocampal NMDA receptors. *Life Science*, 86(7-8): 260-266.
- 25- Rezayof A., A. Zare-Chahoki, M.R. Zarrindast, Y. Rassouli (2010), Inhibition of dorsal hippocampal nitric oxide synthesis potentiates ethanol-induced state-dependent memory in mice. *Behavioral Brain Research*, 209(2): 189-195.
- 26- Ron D. (2004), Signaling cascades regulating NMDA receptor sensitivity to ethanol. *Neuroscientist*, 10(4): 325-336.
- 27- Schummers J., M.D. Browning (2001), Evidence for a role for GABA (A) and NMDA receptors in ethanol inhibition of long-term potentiation. *Brain Research and Molecular Brain Research*, 94(1-2): 9-14.

