

اثر وابستگی به مورفین بر یادگیری و حافظه فضایی در موش صحرایی نر

علی پورمتعب^۱، مسعود طهماسبیان^۱، مریم شاهی^۱، حسین کرمی دارابخانی^۱ و یعقوب فتح الهی^۲

۱- دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

۲- دانشگاه تربیت مدرس، گروه فیزیولوژی

چکیده

اثرات وابستگی به مورفین در حافظه و یادگیری مورد بحث است. برای بررسی این اثرات، از موشهای صحرایی نر استفاده شد. حیوانات وابسته، مورفین سولفات را در آب آشامیدنی به مدت ۲۰ تا ۳۰ روز دریافت نمودند. آزمایشات در دو بخش در ماز آبی مورفین انجام شد. در بخش اول حیوانات بصورت تصادفی ساده در چهار گروه قرار گرفتند. دو گروه اول (کنترل و وابسته) در آب نرمال و دو گروه مشابه دیگر در آب سرد، از روز بیست و یکم در ماز آبی مورفین آزمایش شدند. در بخش دوم اثر حذف مورفین بررسی شد. در این بخش نیز حیوانات بصورت تصادفی ساده در دو گروه قرار گرفتند. گروه (withdrawal-normal) در آب نرمال و گروه (withdrawal-cold) در آب سرد آزمایش شدند. شرایط آزمایش مشابه بخش اول بود. اما از روز ۲۱ تجویز مورفین قطع و دو روز بعد آزمایشات شروع شد. در هر گروه شاخصه های یادگیری و حافظه فضایی توسط کامپیوتر ثبت شد. اطلاعات حاصله به روش t-test و ANOVA بررسی شد. در هر مورد $P < 0.05$ به عنوان حداقل سطح تفاوت معنی دار بین گروهها در نظر گرفته شد. نتایج نشان داد:

۱- مورفین روند یادگیری و حافظه فضایی را تقویت کرد. ۲- آب سرد سرعت شنای حیوانات را کاهش داد ولی فرآیند تثبیت حافظه را تسهیل نمود. ۳- آب سرد اثرات مورفین را در یادگیری سرکوب اما در مرحله تثبیت حافظه تقویت کرد. ۴- حذف مورفین اثرات مورفین را در هر دو مرحله از بین برد. تعیین مکانیسمهای موثر در ایجاد مشاهدات فوق نیازمند مطالعات تکمیلی است.

واژه های کلیدی: وابستگی به مورفین، ماز آبی مورفین، یادگیری و حافظه فضایی، سندرم ترک.

مقدمه

کند. همچنین به دلیل افزودن مورفین به آب آشامیدنی، مانع از تداخل اثر کاته کولامین ها و گلوکوکورتیکوئیدهای مترشح ناشی از استرس می شود. همچنین این مدل شباهت بیشتری به مدل اعتیاد انسانی دارد زیرا میزان مصرف مورفین توسط حیوان وابسته تعیین می شود نه فرد آزمایشگر [۴].

گزارشات متعددی در مورد حضور مسیرهای اویپوئیدریک و گیرنده های آنها در ناحیه CA1 و سایر نواحی هیپوکمپ موجود است [۵، ۶، ۷]. یافته هایی نشان می دهند که اویپوئیدها بر روند تغییر در شکل پذیری سیناپسی شبکه نورونی هیپوکمپ اثر مثبت دارند [۸]. در مطالعه ای که از روش تجویز مزمن خوراکی مورفین استفاده شده است، دیده شده که مورفین موجب تشدید القای LTP در ناحیه CA1 هیپوکمپ موشهای صحرایی نر می شود [۹]. نتایج مطالعه دیگری بر روی موش های صحرایی نر که متعاقب تجویز مزمن مورفین به روش تزریق زیرجلدی وارد مرحله سندرم ترک شده اند، کاهش LTP در سیناپس های ناحیه CA1 هیپوکمپ را نشان می دهد. در همین مطالعه این روش تجویز مورفین موجب نقص

وابستگی به مواد مخدر رده مورفین یکی از عمده ترین مشکلات جوامع بشری است. عدم وجود روشهای مناسب برای درمان اعتیاد، می تواند ناشی از اثرات ناشناخته مورفین بر کارکردهای مختلف سیستم عصبی باشد. امروزه نقش سیستم اویپوئیدی در روند یادگیری و حافظه در مرکز توجه مطالعات تجربی می باشد [۱]. اویپوئیدها از جمله مورفین تاثیرات مختلف و گاه متضادی بر روی یادگیری و حافظه دارند [۲]. مطالعات مختلف نشاندهنده اثرات مثبت یا منفی مورفین بر فرآیند مذکور است که ممکن است یکی از علل این اختلاف، پارامترهای آزمایشگاهی متفاوت باشد [۳].

برای تجویز مورفین، مدل‌های تجربی متنوعی مانند «کاشت زیرجلدی پمپ اسمزی مورفین»، «تجویز حاد بصورت تزریق زیر جلدی» و «تجویز مزمن خوراکی مورفین» بکار می رود. روش اخیر علیرغم دوره زمانی طولانی مدت ایجاد وابستگی، چندین علامت سندرم ترک را ایجاد می

می باشد [۲۰]. نتایج مطالعه ای نشان داده است که در مراحل اولیه سندرم ترک مورفین، نقص یادگیری در ماز آبی مورفین دیده می شود [۲۱]. همچنین نتایج مطالعه دیگری نشان دهنده کاهش LTP در ناحیه CA1 هیپوکامپ موشهای صحرایی وابسته به مورفین می باشد که وارد مرحله سندرم ترک شده اند [۱۰]. لذا در تحقیق حاضر اثرات وابستگی طولانی مدت به مورفین به روش تجویز خوراکی بر روند یادگیری و حافظه فضایی در ماز آبی مورفین و همچنین اثرات این نوع وابستگی در حضور آب سرد (به عنوان عاملی جهت افزایش انگیزه برای یادگیری) و همچنین اثر حذف مورفین بر روند تغییرات حافظه و یادگیری فضایی مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روشها

حیوانات

در این آزمایش تعداد ۵۰ سر موش صحرایی نر نژاد N-MRI محدود وزن ۲۵۰-۳۵۰ گرم در شروع آزمایش، مورد بررسی قرار گرفتند. حیوانات به تعداد ۲-۳ سر در هر قفس قرار گرفته و در معرض سیکل نور - تاریکی ۱۲ ساعته و درجه حرارت کنترل شده محیط نگهداری می شدند. آزمایشات در مرحله نوری دوره ۲۴ ساعته انجام می شد و حیوانات دسترسی کافی به آب و غذا داشتند.

ماز آبی مورفین

ماز آبی مورفین از یک حوضچه استوانه ای شکل سیاه رنگ با قطر داخلی ۱۴۰ cm و ارتفاع ۸۰ cm تشکیل شده که تا ارتفاع ۳۵ cm با آب پر می شود. یک سکوی کوچک از جنس پلکسی گلاس شفاف با قطر ۱۰ cm که یک سانتی متر زیر آب است در حوضچه قرار می گیرد. موقعیت سکو در طول ۴ روز ابتدای آزمایش ثابت است.

روش آزمایش

الف) آماده سازی حیوانات جهت آزمایش: به منظور آشنایی حیوان با شرایط محیط آزمایش و فرد آزمایشگر، هر حیوان به مدت ۵ روز قبل از شروع آزمایشات، این مرحله را طی می کرد. به نحوی که حیوانات در ۳ روز اول هر روز به مدت ۱۰ دقیقه با دست آزمایشگر لمس می شدند. در روز چهارم و پنجم سکو در مرکز حوضچه قرار می گرفت. در روز چهارم حوضچه خالی از آب بود و هر حیوان به مدت ۶۰ ثانیه روی سکو قرار می گرفت. در روز پنجم حوضچه از آب (۲۰ ± ۲ °C) پر می شد و هر حیوان مشابه روز چهارم، به مدت ۶۰ ثانیه روی سکو قرار می گرفت. هرگاه حیوان از سکو وارد آب می شد دوباره ۶۰ ثانیه روی سکو قرار داده می شد به نحوی که در نهایت هر حیوان به مدت ۶۰ ثانیه روی سکو باقی بماند [۱۸].

ب) روش اجرای آزمایش در ماز آبی مورفین: در ابتدای آزمایشات، سکو در مرکز ربع دایره شمال غربی حوضچه قرار گرفته و هر موش به

یادگیری در آزمون ماز آبی مورفین شده است [۱۰]. در مطالعه دیگری نشان داده شده است که تجویز مورفین موجب تخریب یادگیری احترازی فعال می شود و این اثر وابسته به دوز مورفین است [۱۱]. شواهدی نشان دهنده این است که آگونیست های اویوئیدی هنگامی که قبل یا فوراً پس از آزمون تجویز شوند، روند فراگیری را تخریب و آنتاگونیست های آن روند فراگیری را در مدل ماز آبی مورفین تسهیل می کنند [۱]. در پژوهش دیگری دیده شده است که تزریق داخل سیتومی مورفین، یادگیری و حافظه را در روش احترازی غیرفعال تخریب می کند [۱۲]. در آزمایشات انجام شده با Y-maze و Radial maze، تجویز مزمن مورفین موجب تخریب یادگیری شده است [۱۳]. از طرف دیگر در مطالعه ای دیده شده که مورفین به خاطر آوری حافظه را در روش احترازی غیرفعال تسهیل می کند و این اثر را از طریق گیرنده های mu انجام می دهد و این اثرات بطور کامل بوسیله نالوکسان آنتاگونیست می شود [۱۴]. نتایج برخی از مطالعات که در ماز آبی مورفین انجام شده اند، نشان دهنده نقص یادگیری توسط تجویز مورفین به روش تزریقی می باشند [۱۵ و ۱۶]. همچنین گزارش شده که آنتاگونیست اویوئیدها موجب بهبودی فراگیر موشهای ماده در ماز آبی مورفین می شوند [۱۶]. از طرف دیگر با تغییر دمای آب در ماز آبی مورفین می توان سطح انگیزه حیوان جهت یادگیری را تغییر داد و برای ارزیابی انگیزه می توان از تغییرات سرعت شنا و شاخصه های اندازه گیری شده در مرحله probe trial استفاده کرد [۱۷ و ۱۸]. نتایج مطالعاتی نشان می دهد که تزریق مورفین مستقیماً باعث تخریب دقت یادگیری نمی شود بلکه با کاهش انگیزه موجب تخریب یادگیری مکانی در ماز آبی مورفین می شود [۱۵، ۱۸]. همچنین گزارش شده است که فعال شدن سیستم اویوئیدی اندوژن که توسط آب سرد برانگیخته می شود می تواند به یادگیری مکانی در ماز آبی مورفین آسیب وارد کند اما به نظر نمی رسد که این عمل در شرایط نرمال محیطی انجام شود [۱۷].

همچنین دیده شده که تجویز مورفین آگزوژن در آزمونهای یادگیری مکانی، سکوی قابل مشاهده و یادآوری مکانی آسیب ایجاد می کند. در ادامه آزمون، نقصهای القا شده با تزریق مورفین، در حضور آب سرد (به عنوان عاملی جهت افزایش انگیزه) کاهش یافت. این یافته پیشنهاد می کند که تزریق مورفین بیشتر از طریق کاهش انگیزه به یادگیری مکانی نقص وارد می کند و اثر مستقیم بر فرآیندهای پردازش حافظه ندارد [۱]. تاثیر ایجاد وابستگی طولانی مدت به مورفین با روش تجویز خوراکی در فرایند حافظه و یادگیری فضایی کمتر مورد بررسی قرار گرفته ولی از طرفی بررسی الکتروفیزیولوژی اثر این نوع تجویز را بر تقویت LTP در هیپوکامپ موشهای صحرایی نر نشان داده است [۱۹ و ۲۰]. مطالعات اندکی در رابطه با اثر حذف مورفین در حیوانات وابسته، بر فرآیند یادگیری و حافظه فضایی وجود دارد که برخی نشاندهنده اثر مثبت حذف مورفین بر شاخصه های مذکور

شدند. جهت بررسی ایجاد وابستگی، دو گروه اول ($n=5$ در هر گروه) تحت تجویز مورفین خوراکی (گروه وابسته) و یا سوکروز (گروه شاهد) قرار گرفتند. در روز بیست و یکم، نالوکسان HCl (4 mg/kg, ip) به حیوانات تزریق و علائم سندرم ترک اعتیاد در دو گروه مورد ارزیابی قرار گرفت.

شش گروه بعدی جهت مطالعات در ماز آبی مورفین به شرح زیر مورد استفاده قرار گرفتند:

الف) بررسی اثر وابستگی به مورفین: به این منظور یک گروه از حیوانات شاهد (کنترل - نرمال) و یک گروه از حیوانات وابسته (وابسته - نرمال) ($n=7$ در هر گروه) جهت آزمایش در آب با درجه حرارت نرمال ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) مورد مطالعه قرار گرفتند. دو گروه دیگر از حیوانات به شرح فوق (کنترل - سرد و وابسته - سرد) ($n=7$ در هر گروه) جهت آزمایش در آب سرد ($12^\circ\text{C} - 10^\circ\text{C}$) مورد مطالعه قرار گرفتند.

ب) بررسی اثر سندرم ترک مورفین: در این رابطه نیز گروهی از حیوانات ($n=7$) جهت آزمایش در آب با درجه حرارت نرمال ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) (withdrawal-normal) و گروه دیگری ($n=5$) جهت آزمایش در آب سرد ($12^\circ\text{C} - 10^\circ\text{C}$) (withdrawal-cold) مورد مطالعه قرار گرفتند.

روش تجزیه و تحلیل داده ها

تفاوت در مدت زمان لازم برای یافتن سکو، مسافت طی شده و سرعت حرکت حیوان در روزهای آموزش و مدت زمان و مسافت طی شده توسط حیوان در ربع دایره هدف در مرحله probe trial، توسط کامپیوتر ثبت شده و باروشهای آماری t-test و آنالیز واریانس (ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. همچنین از آنالیز Post hoc از نوع تست Tukey جهت تعیین سطح تفاوت معنی دار بین گروهها استفاده شد. در کلیه آزمایشات حداقل سطح تفاوت معنی دار که از لحاظ آماری قابل قبول باشد $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

۱- بررسی ایجاد وابستگی به مورفین

تعداد پنج سر از حیوانات گروه وابسته، که به مدت ۲۰ روز بصورت خوراکی مورفین دریافت کرده بودند، و تعداد پنج سر از حیوانات گروه شاهد که بمدت مشابه سوکروز دریافت نموده بودند، تحت تجویز نالوکسان HCl قرار گرفتند. در گروه وابسته، حداقل ۵ علامت سندرم ترک تا ۲۰ دقیقه پس از تجویز نالوکسان دیده شد که از بین این علائم writhing و اسهال مشهودتر بود. ضمناً حیوانات در طی ۲۴ ساعت پس از تجویز نالوکسان، کاهش وزن ($2\% \pm 7\%$) را نشان دادند. تجویز نالوکسان در گروه شاهد، هیچگونه علائم سندرم ترک را بوجود نیاورد. در ضمن، حیوانات گروه وابسته در طی تجویز مژمن مورفین و قبل از تجویز نالوکسان، علائم رفتاری یا بیماری خاصی را نشان ندادند.

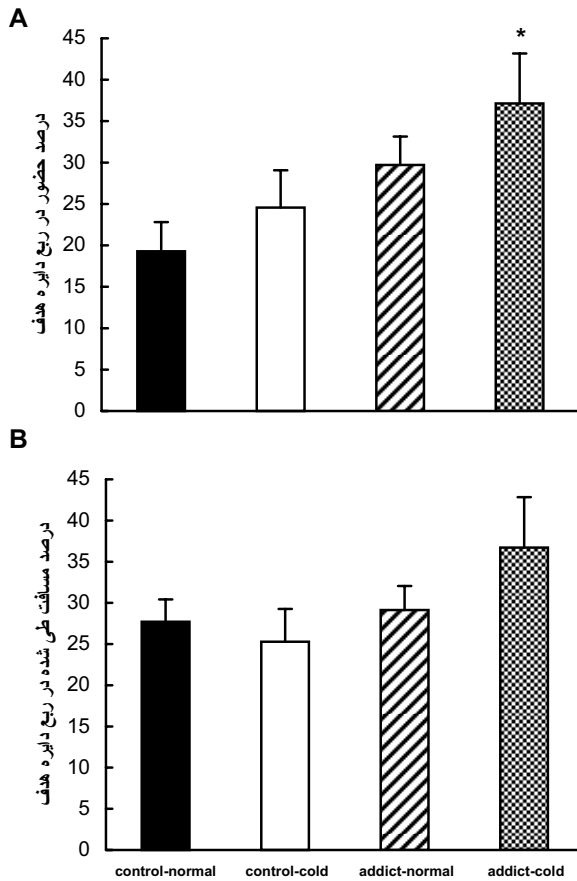
مدت ۵ روز مورد آزمایش قرار می گرفت. در طی روزهای آزمایش، یک فرستنده نور مادون قرمز به موش متصل شده و مسیر حرکت حیوان از طریق یک دوربین مدار بسته که نور مادون قرمز را ردیابی می کند به کامپیوتر انتقال یافته و پارامترهای مختلف از جمله مدت زمان لازم برای یافتن سکو، مسافت طی شده و سرعت حرکت حیوان (در طی روزهای آموزش) و مدت زمان و مسافت طی شده توسط حیوان در ربع دایره هدف که در طی روزهای آموزش سکو در آن قرار داشت (در مرحله probe trial) بوسیله کامپیوتر ثبت و آنالیز می گردید.

در چهار روز اول، هر روز یک بلاک (هر بلاک شامل ۴ کارآزمایی) انجام می شد. در هر کارآزمایی، حیوان به طوری که صورتش به طرف دیواره حوضچه باشد، از یکی از چهار نقطه (شمال، جنوب، شرق یا غرب) در آب رها می شد. هر یک از چهار نقطه شروع در هر بلاک، یکبار استفاده می شد و ترتیب آنها بطور تصادفی توسط کامپیوتر تعیین می گردید. یک کارآزمایی زمانی تمام می شد که موش بر روی سکو رفته و یا بدون یافتن سکو، ۶۰ ثانیه سپری می شد سپس ۳۰ ثانیه فرصت نشستن بر روی سکو به حیوان داده می شد. سه کارآزمایی باقیمانده نیز به همین ترتیب صورت می گرفت. در روز پنجم، probe trial جهت بررسی دقت و صحت یادگیری اولیه انجام می شد. در این مرحله از آزمایش، سکو از حوضچه خارج شده و حیوان طی یک بلاک (شامل ۴ کارآزمایی) اما فقط از یکی از نقاط فوق الذکر (که توسط کامپیوتر تعیین می شد) در آب رها می گردید. دمای آب برای هر موش در تمامی ۵ روز آزمایش ثابت بود. همچنین در طول ۴ روز آموزش تعداد پرش حیوانات از روی سکو به داخل آب نیز توسط محقق ثبت می گردید.

دارو و گروههای آزمایش

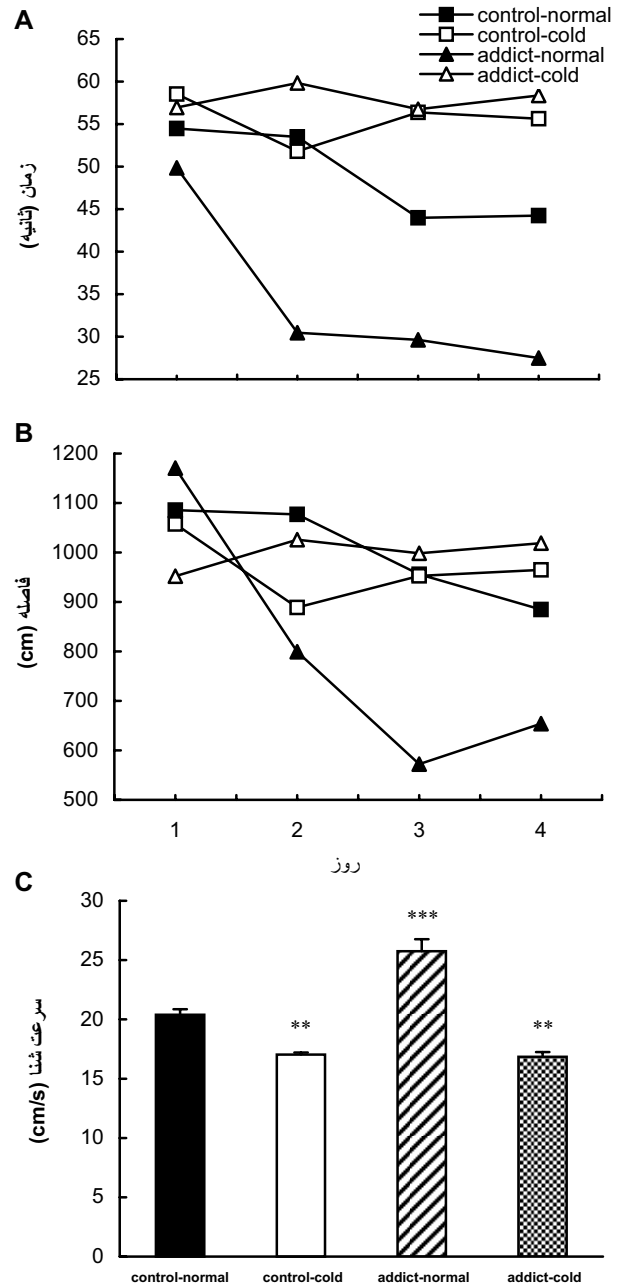
۱- تجویز مژمن مورفین: تجویز مورفین در آب آشامیدنی به روش زیر انجام شد: مورفین سولفات (تماد- ایران) با غلظت $0.1\text{ mg/ml} - 0.2 - 0.3$ هر کدام به مدت ۴۸ ساعت و 0.4 mg/ml تا روز بیستم الی سی ام آزمایش به آب آشامیدنی حیوانات اضافه می شد. برای از بین بردن مزه تلخ مورفین، سوکروز $4\text{g}/100\text{ml}$ به آب آشامیدنی اضافه می شد. در گروه شاهد، موشها در مدت مشابه فقط سوکروز $4\text{g}/100\text{ml}$ در آب آشامیدنی دریافت می کردند. موشها از روز بیستم تا سی ام مورد آزمایش قرار می گرفتند [۴]. در این مدت در حیواناتی که برای بررسی اثر وابستگی به مورفین در نظر گرفته شده بودند تجویز مورفین ادامه داشت تا پدیده وابستگی و تحمل دارویی همچنان ادامه داشته باشد [۱۰] اما در گروهی که جهت بررسی اثر سندرم ترک مورفین در نظر گرفته شده بود تجویز مورفین در آب آشامیدنی تا روز بیستم ادامه یافته و از روز بیست و یکم تا پایان آزمایشات حیوانات تنها سوکروز ($4\text{g}/100$) دریافت می کردند. ۴۸ ساعت پس از قطع مورفین، آزمایشات در ماز آبی مورفین آغاز می گردید

۲- گروههای آزمایش: در ابتدای آزمایش حیوانات به ۸ گروه تقسیم



شکل ۲- مقایسه درصد حضور (A) و درصد مسافت طی شده (B) در ربع دایره هدف در مرحله probe trial در گروه‌های control-normal، control-cold، addict-normal و addict-cold. تفاوت نسبت به گروه control-normal نشان داده شده است. *P<0.05

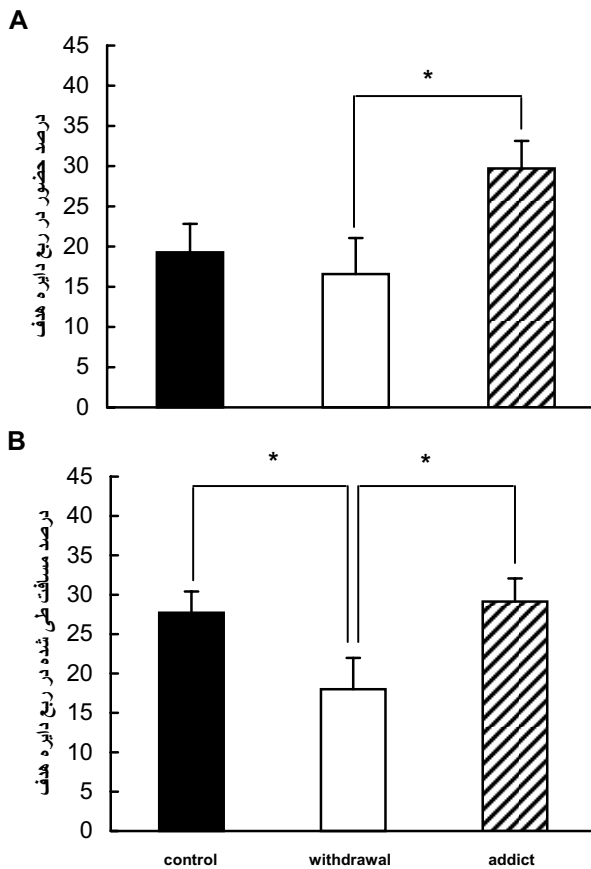
نتایج حاصله همچنین نشان می‌دهد که به طور کلی تفاوت بین گروه‌های کنترل-نرمال، وابسته-نرمال، کنترل-سرد و وابسته-سرد در روزهای دوم [F(3,24)=9.56 و P<0.0002]، سوم [F(3,24)=8.83 و P<0.0004] و چهارم [F(3,24)=6.84 و P<0.0017] آموزش وجود دارد. در این روزها، میانگین زمان لازم برای یافتن سکو در گروه «وابسته-نرمال» کمتر از گروه «کنترل-نرمال» بود. این تفاوت در روز دوم آموزش از لحاظ آماری معنی دار است (P<0.01). نتایج حاصل از آزمایشات در گروه «کنترل-سرد» نسبت به گروه «کنترل-نرمال» نشان داد که زمان لازم برای یافتن سکو در روزهای سوم و چهارم آموزش در گروه «کنترل-سرد» بیشتر از گروه «کنترل-نرمال» می‌باشد اگرچه این تفاوت به لحاظ آماری معنی دار نیست. تفاوت مذکور بین گروه‌های «کنترل-سرد» و «وابسته-سرد» نیز معنی دار نیست. بررسی آماری در خصوص نتایج حاصله از گروه‌های «وابسته-نرمال» و «وابسته-سرد» نشان داد که در تمامی روزهای آموزش، زمان لازم برای یافتن سکو در گروه «وابسته-نرمال» از گروه «وابسته-سرد» کمتر است. این تفاوت در روزهای دوم (P<0.001)، سوم و چهارم آموزش (P<0.01) معنی دار است (شکل A-1).



شکل ۳- مقایسه میانگین زمان لازم برای یافتن سکو (A)، میانگین فاصله طی شده برای یافتن سکو (B) در طی روزهای آموزش و میانگین سرعت حیوانات در کل روزهای آموزش (C) در گروه‌های control-normal، control-cold، addict-normal و addict-cold. تفاوت نسبت به گروه control-normal نشان داده شده است. ***P<0.001، **P<0.01

۲- بررسی اثر وابستگی به مورفین بر یادگیری و حافظه فضایی

الف- میانگین زمان لازم برای یافتن سکو در طی روزهای آموزش: نتایج نشان می‌دهد که تجویز مورفین باعث کاهش زمان لازم برای یافتن سکو در طی روزهای آموزش می‌شود. بطوریکه حیوانات در روز چهارم در زمان کمتری نسبت به روز اول سکو را پیدا می‌کردند. اگرچه این کاهش از لحاظ آماری معنی دار نیست.

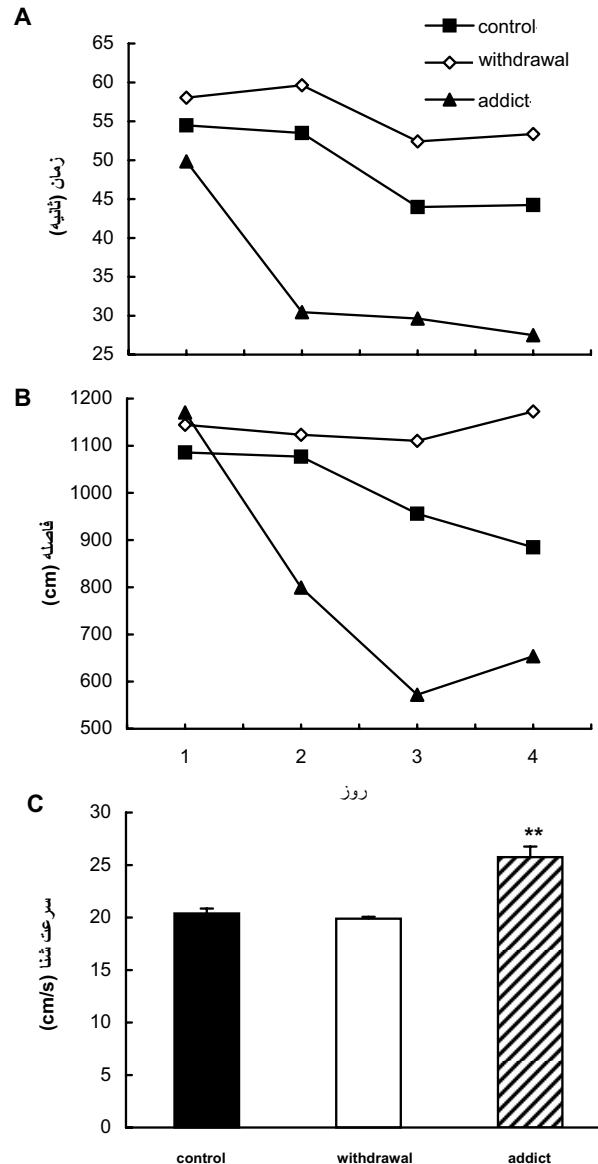


شکل ۴- مقایسه درصد حضور (A) و درصد مسافت طی شده (B) در ربع دایره هدف در مرحله probe trial در گروه‌های control، withdrawal، addict. تفاوت نسبت به گروه‌های control و addict نشان داده شده است. * $P < 0.05$

در ضمن هیچگونه تفاوت معنی دار بین گروه‌های «کنترل-نرمال»، «کنترل-سرد» و «وابسته-سرد» وجود ندارد. تجزیه و تحلیل آماری همچنین نشان داد که بین دو گروه «وابسته-نرمال» و «وابسته-سرد» تفاوت وجود دارد. این تفاوت در روز سوم معنی دار ($P < 0.01$) است (شکل B-۱).

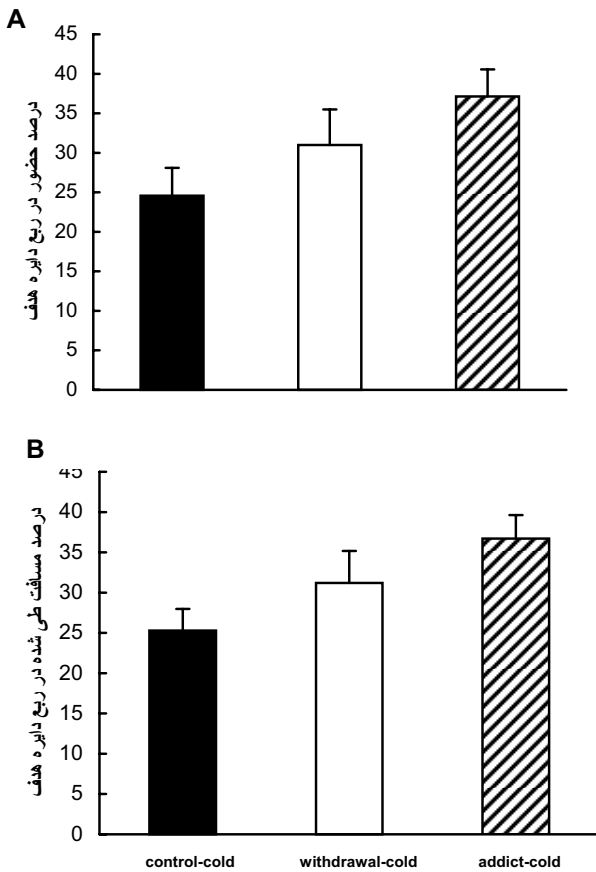
ج- میانگین سرعت حیوانات در کل روزهای آموزش:

نتایج نشان می‌دهد که بطور کلی تفاوت بین چهار گروه مذکور وجود دارد [F(3,12)=48.66 و $P < 0.0000$]. آنالیز Post hoc نشان داد که این تفاوت بین گروه‌های «کنترل-سرد» ($P < 0.01$)، «وابسته-نرمال» ($P < 0.001$) و «وابسته-سرد» ($P < 0.01$) نسبت به گروه «کنترل-نرمال» معنی دار است. همچنین این تفاوت بین گروه‌های «وابسته-نرمال» و «کنترل-سرد» نیز معنی دار ($P < 0.001$) می‌باشد. تفاوت مذکور بین گروه‌های «وابسته-سرد» و «کنترل-سرد» معنی دار نیست. از طرف دیگر این تفاوت بین گروه‌های «وابسته-سرد» و «وابسته-نرمال» معنی دار ($P < 0.001$) است (شکل C-۱).

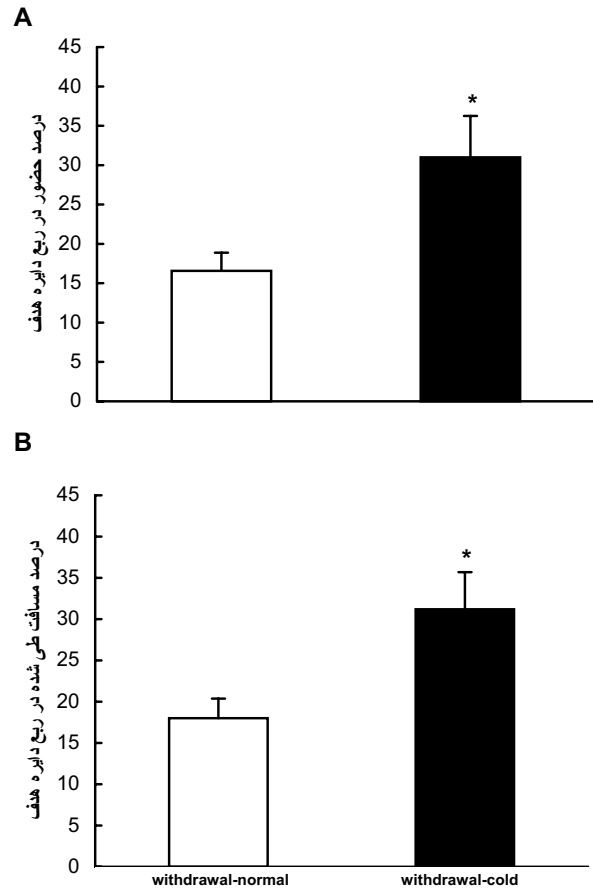


شکل ۳- مقایسه میانگین زمان لازم برای یافتن سکو (A)، میانگین فاصله طی شده برای یافتن سکو (B) در طی روزهای آموزش و میانگین سرعت حیوانات در کل روزهای آموزش (C) در گروه‌های control، withdrawal، addict. تفاوت نسبت به گروه control نشان داده شده است. ** $P < 0.01$

ب- میانگین فاصله طی شده برای یافتن سکو در طی روزهای آموزش: نتایج نشان می‌دهد که تجویز مورفین باعث کاهش فاصله طی شده برای یافتن سکو در طی روزهای آموزش می‌شود [F(3,24)=3.41 و $P < 0.0337$]. تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که این تفاوت بین روزهای اول و سوم معنی دار ($P < 0.05$) است. نتایج حاصله همچنین نشان می‌دهد که بطور کلی تفاوت بین گروه‌های مورد مطالعه در روز سوم آموزش وجود دارد [F(3,24)=6.01 و $P < 0.0033$]. از طرف دیگر، در طی روزهای آموزش، میانگین فاصله طی شده برای یافتن سکو در روزهای دوم، سوم و چهارم در گروه «وابسته-نرمال» کمتر از «کنترل-نرمال» بود. این تفاوت در روز سوم آموزش از لحاظ آماری معنی دار ($P < 0.05$) است.



شکل ۶- مقایسه درصد حضور (A) و درصد مسافت طی شده (B) در ربع دایره هدف در مرحله probe trial در گروه‌های control-cold، withdrawal-cold، addict-cold.



شکل ۵- مقایسه درصد حضور (A) و درصد مسافت طی شده (B) در ربع دایره هدف در مرحله probe trial در گروه‌های withdrawal-normal، withdrawal-cold. *P<0.05

و- درصد مسافت طی شده در ربع دایره هدف در مرحله probe trial

نتایج حاصله نشان می‌دهد که مسافت طی شده در گروه‌های «وابسته-نرمال» و «وابسته-سرد» نسبت به گروه «کنترل-نرمال» افزایش دارد. اگرچه این افزایش از لحاظ آماری معنی دار نیست (شکل ۲-۲-B).

۳- بررسی اثر سندرم ترک مورفین بر یادگیری و حافظه فضایی

A- نتایج حاصل از آب نرمال

در این قسمت از آزمایشات، نتایج حاصل از گروه withdrawal در آب نرمال با گروه‌های کنترل و وابسته در آب نرمال، مورد بررسی قرار گرفته است:

الف- میانگین زمان لازم برای یافتن سکو در طی روزهای آموزش: نتایج حاصله نشان می‌دهد که بطور کلی بین گروه‌های مورد مطالعه در روزهای دوم [F(2,18)=11.33 و P<0.0007]

د- میانگین پرش حیوانات از سکو به داخل آب:

نتایج حاصله نشان داد که میانگین پرش حیوانات از سکو به داخل آب در گروه «کنترل-سرد» (2±0/85)، کمتر از گروه «کنترل-نرمال» (2/43±0/81) بود هر چند این تفاوت به لحاظ آماری معنی دار نیست.

ه- درصد حضور حیوانات در ربع دایره هدف در مرحله probe trial

درصد حضور حیوانات در ربع دایره هدف (ربع دایره ای که در طی روزهای آموزش سکو در آن قرار داشت) در مرحله probe trial نیز در چهار گروه فوق الذکر بررسی شد. نتایج حاکی از آن است که بطور کلی بین گروه‌ها تفاوت وجود دارد [F(3,24)=2.87 و P<0.0573]. این تفاوت بین گروه‌های «وابسته-سرد» و «کنترل-نرمال» معنی دار (P<0.05) است. تفاوت مذکور بین گروه‌های «کنترل-سرد» و «وابسته-نرمال» نسبت به گروه «کنترل-نرمال» مشهود است. اگرچه میزان آن به لحاظ آماری معنی دار نیست (شکل ۲-A).

نرمال» و withdrawal نسبت به گروه «کنترل-نرمال» نیز وجود دارد. هرچند که این تفاوت از لحاظ آماری معنی دار نیست (شکل A-۴).

ه- درصد مسافت طی شده در ربع دایره هدف در مرحله probe trial:

نتایج حاصله نشان می دهند که بطور کلی تفاوت بین گروههای مورد مطالعه وجود دارد [F(2,18)=5.13 و P<0.0172]. این تفاوت بین گروههای withdrawal و «کنترل-نرمال» و همچنین گروههای withdrawal و «وابسته-نرمال»، معنی دار (P<0.05) است (شکل B-۴).

B- نتایج حاصل از آب سرد

در ادامه آزمایشات نتایج حاصل از گروه withdrawal در آب سرد با گروههای کنترل و وابسته در آب سرد مورد بررسی قرار گرفته است. در مورد شاخصه های میانگین زمان لازم و میانگین فاصله طی شده برای یافتن سکو و سرعت حیوانات در کل روزهای آموزش هیچگونه تفاوت معنی داری بین گروههای مورد مطالعه مشاهده نشد (نتایج نشان داده نشده است).

در مرحله probe trial اطلاعات حاصل از گروههای withdrawal در آب نرمال و آب سرد با یکدیگر مقایسه شده اند. نتایج حاصله نشان می دهد که درصد حضور و درصد مسافت طی شده در ربع دایره هدف در گروه آب سرد بیشتر از آب نرمال می باشد (P<0.05) است (شکل B-۵ و A-۵).

در مرحله probe trial اطلاعات حاصل از گروههای withdrawal-cold و وابسته-سرد و کنترل-سرد نیز با یکدیگر مقایسه شده اند. نتایج حاصله نشان می دهد که درصد حضور و درصد مسافت طی شده در ربع دایره هدف در گروههای کنترل، withdrawal و وابسته به ترتیب افزایش می یابد هر چند این تغییرات از لحاظ آماری معنی دار نیست (شکل B-۶ و A-۶).

بحث

اثر مورفین بر روی یادگیری و حافظه بسیار بحث انگیز می باشد. همچنین گزارش های متفاوتی در مورد اثر مورفین بر روی یادگیری و حافظه در حیوانات وابسته به مورفین وجود دارد. برای ایجاد وابستگی به مورفین مدل های حیوانی متعددی بکار می رود. ما در این تحقیق به دو دلیل از روش «تجویز طولانی مدت خوراکی مورفین» استفاده کردیم. اول اینکه این روش از ایجاد استرس ناشی از تزریق دارو و یا کاشت زیر جلدی جلوگیری می کند و مانع از تداخل اثر کاته کولامین ها و گلوکوکورتیکوئیدهای مترشحه ناشی از استرس می گردد. دوم آنکه این مدل ایجاد وابستگی شباهت بیشتری به مدل

سوم [F(2,18)=4.85 و P<0.0206] و چهارم [F(2,18)=4.04 و P<0.0356] آموزش تفاوت وجود دارد. این تفاوت در روز دوم بین گروههای «کنترل-نرمال» و «وابسته-نرمال» (P<0.01) و از طرف دیگر بین گروههای «وابسته-نرمال» و withdrawal (P<0.001) معنی دار است. همچنین این تفاوت در روزهای سوم و چهارم نیز بین گروههای «وابسته-نرمال» و withdrawal معنی دار (P<0.05) است. از طرف دیگر حذف مورفین باعث از بین رفتن اثرات ناشی از تجویز مورفین در کلیه روزهای آموزش شده بطوری که حتی زمان لازم برای یافتن سکو در طی روزهای آموزش از گروه کنترل بیشتر شده است هر چند این تفاوت از نظر آماری معنی دار نیست (شکل A-۳).

ب- میانگین فاصله طی شده برای یافتن سکو در طی روزهای آموزش: نتایج حاصله نشان می دهند که بطور کلی بین گروههای مورد مطالعه در روزهای سوم [F(2,18)=7.91 و P<0.0034] و چهارم [F(2,18)=4.47 و P<0.0266] آموزش تفاوت وجود دارد. این تفاوت در روز سوم بین گروههای «کنترل-نرمال» و «وابسته-نرمال» (P<0.05) و از طرف دیگر بین گروههای «وابسته-نرمال» و withdrawal (P<0.01) معنی دار است. همچنین این تفاوت در روز چهارم نیز بین گروههای «وابسته-نرمال» و withdrawal معنی دار (P<0.05) است. از طرف دیگر همانند شاخصه مدت زمان لازم برای یافتن سکو، حذف مورفین باعث از بین رفتن اثرات ناشی از تجویز مورفین در خصوص شاخصه فاصله طی شده برای یافتن سکو در کلیه روزهای آموزش شده بطوری که حتی زمان لازم برای یافتن سکو در طی روزهای آموزش از گروه کنترل بیشتر شده است هر چند این تفاوت از نظر آماری معنی دار نیست (شکل B-۳).

ج- میانگین سرعت حیوانات در کل روزهای آموزش:

بررسی نتایج نشان می دهد که به طور کلی تفاوت بین گروههای مورد مطالعه وجود دارد [F(2,9)=16.2 و P<0.001]. آنالیز Post hoc نشان داد که این تفاوت بین گروههای «وابسته-نرمال» با «کنترل-نرمال» و گروههای «وابسته-نرمال» با withdrawal معنی دار (P<0.01) می باشد (شکل C-۳).

د- درصد حضور حیوانات در ربع دایره هدف در مرحله probe trial یافته ها نشان می دهد که به طور کلی تفاوت بین گروههای مورد مطالعه وجود دارد [F(2,18)=4.88 و P<0.0202]. تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که این تفاوت بین گروههای «وابسته-نرمال» و withdrawal معنی دار (P<0.05) است. این تفاوت بین گروههای «وابسته-

موشهای ماده در ماز آبی مورفین می شود [۱۶]. نتایج یک پژوهش نشان می دهد که تزریق مورفین باعث تخریب دقت یادگیری نمی شود اما با کاهش انگیزه موجب تخریب یادگیری مکانی می شود [۱۸].

تفاوت نتایج مطالعه حاضر و تحقیقات فوق الذکر می تواند ناشی از تفاوت در روش تجویز مورفین باشد. زیرا در مطالعه حاضر تجویز خوراکی مورفین انجام شده اما در مطالعات مشابه مورفین به صورت تزریقی استفاده شده است. از طرف دیگر در مطالعه ما، حیوانات وارد مرحله وابستگی به مورفین شده اند زیرا علائم سندرم ترک اعتیاد در گروه وابسته، کاملاً مشهود بود. اما در بیشتر مطالعات دیگر، فقط اثرات تجویز کوتاه مدت روزانه مورفین بررسی شده و حیوانات از لحاظ وابستگی به مورفین مورد بررسی قرار نگرفته اند. بنابراین به نظر می رسد فرآیند وابستگی به مورفین و تبعات ناشی از آن مانند تحمل به دارو در ایجاد اختلاف نتایج مؤثر باشد.

در مطالعه حاضر، گروهی از حیوانات در آب سرد ($10-12^{\circ}\text{C}$) مورد مطالعه قرار گرفتند. مطالعات قبلی نشان می دهند که این درجه سرمای آب نمی تواند دمای درونی بدن حیوان را آنچنان کاهش دهد که منجر به تخریب حافظه گردد [۱]. لذا در این مطالعه اثرات ناشی از این درجه از سرمای آب نیز بررسی شده است و در نتیجه اثرات تخریبی حاصل از استرس سرما بر یادگیری و حافظه منتفی است.

در مطالعه حاضر دیده شد که در طی روزهای آموزش، تفاوتی بین میانگین فاصله طی شده برای یافتن سکو در گروه «کنترل-سرد» نسبت به گروه «کنترل-نرمال» وجود ندارد. اما در روزهای سوم و چهارم، زمان لازم برای یافتن سکو در گروه «کنترل-سرد» بیشتر از گروه «کنترل-نرمال» است هر چند این تفاوت از لحاظ آماری معنی دار نیست. از طرف دیگر، میانگین سرعت حرکت حیوانات در گروه «کنترل-سرد» نسبت به گروه «کنترل-نرمال» شدیداً کاهش یافته است. کاهش فعالیت حرکتی ناشی از آب سرد قبلاً گزارش شده بود [۲۵ و ۲۶]. بنابراین افزایش زمان لازم برای یافتن سکو می تواند ناشی از کاهش فعالیت حرکتی توسط آب سرد باشد زیرا فاصله طی شده برای یافتن سکو تغییر نکرده است. بنابراین به نظر می رسد آب سرد با کاهش فعالیت حرکتی، میانگین زمان لازم برای یافتن سکو را خصوصاً در روزهای سوم و چهارم آموزش افزایش داده است و تأثیری در تخریب فرآیند یادگیری فضایی ندارد اما در مرحله *probe trial* عملکرد حیوانات گروه «کنترل-سرد» در مورد شاخصه «درصد حضور در ربع دایره هدف» بهتر از گروه «کنترل-نرمال» بود همچنین میانگین پرش حیوانات از سکو در گروه «کنترل-سرد» کمتر از گروه «کنترل-نرمال» بود. کارآیی بهتر حیوانات جهت یادگیری فضایی در آب سرد ($10 \pm 1^{\circ}\text{C}$) نسبت به آب نرمال ($22 \pm 1^{\circ}\text{C}$) در آزمون ماز آبی مورفین قبلاً نیز گزارش شده بود و پیشنهاد شده بود که آب سرد باعث افزایش انگیزه برای یادگیری می شود [۱]. مطالعات ما نیز مؤید اثرات مثبت آب سرد در ایجاد انگیزه می باشد.

همچنین در مطالعه حاضر، اثرات وابستگی به مورفین در حضور آب سرد نیز مورد بررسی قرار گرفت. همانگونه که قبلاً گفته شد ایجاد

اعتیاد انسانی دارد زیرا میزان مصرف مورفین توسط حیوان وابسته و نه آزمایشگر تعیین می گردد [۴].

محققین دیگری [۲۲ و ۲۴] کارآیی این روش را در ایجاد وابستگی مورد آزمون قراردادده بودند. ایجاد وابستگی با این روش در تجربیات آزمایش ما نیز بررسی شد و تمام حیوانات وابسته علائم سندرم ترک را نشان دادند. بروز علائم سندرم ترک با تجویز نالوکسان شاخص مطمئنی از پیدایش وابستگی در حیوانات است. در مطالعه ما نیز گروه کنترل، نالوکسان دریافت کردند ولی علائمی را آشکار نمودند که خود تأییدی بر اثرات این نوع تجویز مزم مورفین در ایجاد وابستگی بود.

مطالعات مختلف نشان دهنده اثرات مثبت یا منفی مورفین در فرآیند حافظه و یادگیری است. ممکن است یکی از علل این اختلافات پارامترهای آزمایشگاهی متفاوت باشد [۳]. ما در تحقیق حاضر بر آن شدیم که اثرات تجویز مزم خوراکی مورفین را در مدل ماز آبی مورفین در موش صحرایی نر مورد بررسی قرار دهیم. نتیجه به دست آمده از این آزمایش نشان داد که وابستگی به مورفین موجب تسهیل یادگیری و حافظه فضایی می شود. با گذشت زمان در طی روزهای آموزش تجویز مزم خوراکی مورفین موجب کاهش میانگین زمان لازم برای یافتن سکو و کاهش فاصله طی شده برای یافتن سکو و افزایش سرعت حیوانات نسبت به گروه کنترل گردید. این اثرات موید تقویت روند یادگیری فضایی است [۱۷]. در رابطه با افزایش سرعت حرکت حیوانات در مطالعات قبلی نیز افزایش فعالیت حرکتی حیوانات توسط تجویز مورفین گزارش شده بود [۲۳]. برای ارزیابی انگیزه می توان از سرعت شنا و تغییرات ایجاد شده در مرحله *probe trial* استفاده کرد [۱]. در مطالعه حاضر و در مرحله *probe trial* نیز، وابستگی به مورفین در ربع دایره هدف و مسافت طی شده در این ربع دایره را افزایش داد. این نتایج نیز تأیید کننده اثر مثبت مورفین در مرحله تثبیت حافظه فضایی است [۱]. از طرف دیگر گزارشات متعددی در مورد حضور گیرنده ها و مسیرهای اپیوئیدرژیک در ناحیه CA1 و سایر نواحی هیپوکمپ موجود است [۷ و ۶]. یافته هایی هم نشان می دهند که اپیوئیدها بر روند شکل پذیری سیناپسی شبکه نورونی هیپوکمپ اثر مثبت دارند [۸]. مطالعات دیگری نشان داده اند که وابستگی به مورفین با روش تجویز خوراکی نه تنها موجب تقویت القای LTP در ناحیه CA1 هیپوکمپ می شود بلکه فرآیند کاهش LTP را هم کند می کند. همچنین نتایج مطالعه ای نشان داد که مورفین به خاطر آوری حافظه را در روش احترازی غیرفعال تسهیل می کند و این اثر بطور کامل بوسیله نالوکسان آنتاگونیست می شود [۱۴]. گزارشات فوق با یافته این مطالعه مبنی بر اثر مثبت وابستگی به مورفین با روش خوراکی بر روند یادگیری همخوانی دارد. بنابراین بطور کلی می توان گفت که تجویز مزم مورفین با روش حاضر موجب تسهیل یادگیری و حافظه فضایی در مدل ماز آبی مورفین می شود.

از طرف دیگر برخی از مطالعات نشان داده اند که مورفین موجب نقص در یادگیری فضایی در مدل ماز آبی مورفین می شود [۱۵ و ۲۴]. همچنین گزارش شده که آنتاگونیست اپیوئیدها موجب بهبود فراگیری

معکوس کرد [۲۰]. در گزارش دیگری مورفین را به روش پمپ اسمزی به مدت ۷ روز تجویز کرده اند و پس از ورود حیوانات به مرحله سندرم ترک مطالعات در روز ۱ (early) یا ۲۱ (late) مرحله سندرم ترک، در ماز آبی مورفین انجام شده است. یافته های این مطالعه نشان می دهد که مرحله early withdrawal باعث نقص یادگیری در طی روزهای آموزش می شود اگرچه در مرحله probe trial حیوانات ربع دایره هدف را درست پیدا می کردند. اما در گروه late withdrawal نقص یادگیری فضایی مشاهده نشد [۲۱].

نتایج مطالعه ما نشان دهنده آن است که ورود حیوانات وابسته به مرحله withdrawal موجب نقص یادگیری و حافظه می شود. Pu و همکاران نیز گزارش نموده اند چنانچه موشهای صحرایی نر تحت تجویز طولانی مدت تزریقی مورفین قرار گرفته و سپس وارد مرحله سندرم ترک شوند، کاهش شدید LTP را در ناحیه CA1 هیپوکمپ نشان می دهند [۱۰]. این یافته نیز با نتایج حاصل از آزمایشات ما همخوانی دارد و می تواند ناشی از ایجاد اثرات سوء قطع مصرف مورفین در مرحله وابستگی و تحمل به مورفین باشد.

همچنین بخش انتهایی آزمایشات ما نشان داد که حذف مورفین در حضور آب سرد تاثیر معنی داری در روند یادگیری ناشی از مورفین ندارد زیرا چنانچه گفته شد اساساً کاهش فعالیت حرکتی ایجاد شده توسط آب سرد به حدی است که در طی روزهای آموزش اثرات مثبت مورفین را از بین برده است بنابراین اثرات مثبتی از مورفین وجود نداشت که به واسطه حذف آن تخریب شود. اما صرف قرارگیری حیوانات در آب سرد اثرات مثبت خود را در روند به خاطر آوری حافظه فضایی و ایجاد انگیزه حتی در هنگام حذف مورفین نیز نشان می دهد. به نحوی که درصد حضور و درصد مسافت طی شده در ربع دایره هدف در مرحله probe trial در گروه withdrawal-cold بیشتر از withdrawal-normal می باشد.

همچنین نتایج نشان داد که علیرغم اینکه حذف مورفین در حضور آب سرد در مرحله probe trial تا حدودی کارایی حیوانات را کاهش می دهد اما هنوز اثرات ناشی از مورفین در تثبیت حافظه و افزایش انگیزه برای یادگیری ناشی از آب سرد به طور کامل از بین نرفته و لذا به نظر می رسد که اثر آب سرد در مرحله probe trial قویتر از اثر مورفین در این مرحله می باشد چرا که همانگونه که قبلاً گفته شد حذف مورفین در آب نرمال حتی باعث کاهش کارایی حیوانات در مرحله probe trial به مقادیر کمتر از گروه کنترل گردید. در رابطه با اثر تقویتی آب سرد در مرحله probe trial گزارشات موجود است [۱] که در این رابطه قبلاً توضیح داده شد.

نتیجه گیری

یافته های این پژوهش نشان داد که ایجاد وابستگی به مورفین به روش تجویز مزمن خوراکی، اثرات تسهیل کننده بر روند یادگیری و حافظه

وابستگی به مورفین به روش خوراکی، روند یادگیری فضایی را تقویت نمود. از طرفی آب سرد در طی روزهای آموزش باعث کاهش فعالیت حرکتی حیوان شد. در این مطالعه نیز گروه «وابسته-سرد» نسبت به گروه «کنترل-سرد» در هیچ یک از شاخصه های مورد مطالعه تفاوت معنی دار نداشتند. اما در گروه «وابسته-سرد» نسبت به گروه «وابسته-نرمال» کلیه شاخصه های مذکور اعم از میانگین زمان لازم و فاصله طی شده برای یافتن سکو افزایش یافته ولی سرعت حرکت حیوانات کاهش معنی داری را نشان می دهد و به نظر می رسد اثرات تخریبی مشهود، ناشی از کاهش در فعالیت حرکتی حیوانات توسط آب سرد می باشد بنابراین اثرات مثبت ناشی از مورفین در افزایش فعالیت حرکتی، توسط اثرات منفی آب سرد در شاخصه مذکور، کاملاً سرکوب شده است.

در فرآیند تثبیت حافظه و به ویژه در مورد شاخصه درصد حضور در ربع دایره هدف، در گروه «کنترل-سرد» نسبت به گروه «کنترل-نرمال» افزایش کارایی دیده می شود. این افزایش کارایی در گروه «وابسته-نرمال» نسبت به گروه «کنترل-نرمال» مشهود تر است. نکته جالب توجه اینکه در گروه «وابسته-سرد» این اثرات تقویتی هم راستای هم، عمل نموده به نحوی که درصد حضور در ربع دایره هدف در گروه «وابسته-سرد» به طور معنی داری بیشتر از گروه «کنترل-نرمال» است. این اثرات تقویتی جمع شونده در خصوص شاخصه درصد مسافت طی شده در ربع دایره هدف نیز به میزان کمتری دیده می شود. بنابراین به نظر می رسد مکانیسم های مؤثر در ایجاد اثرات مثبت آب سرد و وابستگی به مورفین در مرحله تثبیت حافظه اثرات تقویتی بر یکدیگر دارند و بررسی این مکانیسم ها نیاز به مطالعات تکمیلی دارد. در ادامه آزمایشات عنوان گردید که تاثیرات حاصل از وابستگی به مورفین در آب با درجه حرارت نرمال بوسیله حذف مورفین از بین می روند. در آب نرمال، حیوانات وابسته در کلیه شاخصه های زمان لازم و فاصله طی شده برای یافتن سکو و میانگین سرعت در کل روزهای آموزش، بهبود روند یادگیری را نسبت به گروه کنترل نشان می دادند. اما حذف مورفین موجب افزایش شاخصه های «زمان لازم و فاصله طی شده برای یافتن سکو در طی روزهای آموزش» نسبت به گروه وابسته می شود و حتی پاسخهای حاصله نسبت به گروه کنترل نیز تخریب بیشتری را نشان می دهد. در مورد شاخصه سرعت شنا نیز، حیواناتی که در معرض حذف مورفین قرار گرفته اند، کاهش معنی داری نسبت به گروه وابسته نشان می دهند. در مرحله probe trial، درصد حضور حیوانات و درصد مسافت طی شده در ربع دایره هدف از دو گروه کنترل و وابسته کمتر است. کلیه اثرات ذکر شده را می توان به معکوس شدن اثرات وابستگی به مورفین در اثر حذف تجویز آن، نسبت داد. در رابطه با معکوس شدن اثرات وابستگی به مورفین در مرحله withdrawal بر شاخصه های یادگیری و حافظه فضایی مطالعات محدودی انجام شده است. در مطالعاتی دیده شده که نالوکسان نقص ایجاد شده در یادگیری و حافظه توسط مورفین را بلوک می کند [۱۵]. در مطالعه دیگری، مرحله withdrawal متعاقب تجویز تزریقی مورفین، اثرات تخریبی مورفین بر حافظه را کاملاً

- F.E. Relative contents and concomitant release of prodynorphine –derived peptides in rat hippocampus, *Proc Natl Acad Sci USA*, 80 (1984) 7669-7673.
- [6] Lambert, N.A., Harrison, N.L. and Teyler, T.J. Evidence for mu opiate receptors on inhibitory terminals in area CA1 of rat hippocampus, *Neurosci Lett*, 124 (1991) 101-104.
- [7] Neumaier, J.F. and Chavkin, C. Release of endogenous opioid peptides displaces diprenorphine binding in the rat hippocampal slices, *Brain Res*, 493 (1989) 292-302.
- [8] Xie, C.W. and Lewis, D.V. Endogenous opioids regulate long-term potentiation of synaptic inhibition in the dentate gyrus of rat hippocampus, *J Neurosci*, 15 (1995) 3788-3795.
- [9] Mansouri, F.A., Motamedi, F., Fathollahi, Y., Atapour, N. and Semnani, S. Augmentation of LTP induced by primed-bursts tetanic stimulation in hippocampal CA1 area of morphine dependent rats, *Brain Res*, 769 (1997) 119-124.
- [10] Pu, L., Bao, G.B., Xu, N.J., Ma, L. and Pei, G. Hippocampal long-term potentiation is reduced by chronic opiate treatment and can be restored by re-exposure to opiates, *J Neurosci*, 22 (2002) 1914-1921.
- [11] Aguilar, M.A., Minarro, J. and Simon, V.M. Dose – dependent impairing effects of morphine on avoidance acquisition and performance in male mice, *Neurobiol Learn Mem J*, 69 (1998) 92-105.
- [12] Ragozzino, M.E. and Gold, P.E. Glucose injections into the medial septum reverse the effects of intraseptal morphine infusions on hippocampal acetylcholine output and memory, *Neurosci*, 68 (1995) 981-988.
- [13] Spain, J.W. and Newsom, G.C. Chronic opioids impair acquisition of both radial maze and Y-maze choice escape, *Psychopharmacol (Berl)*, 105 (1991) 101-106.
- [14] Shiigi, Y., Takahashi, M. and Kaneto, H. Facilitation of memory retrieval by pretest morphine mediated by mu but not delta and kappa opioid receptors, *Psychopharmacol (Berl)*, 102 (1990) 329-332.
- [15] Mc Namara, R.K. and Skelton, R.W. Pharmacological

فضایی در مدل ماز آبی مورفین دارد. کاهش درجه حرارت آب به نحوی که درجه حرارت مرکزی بدن را تا حد ایجاد استرس مخرب حافظه کاهش ندهد، باعث کاهش فعالیت حرکتی حیوانات در طی روزهای یادگیری و موجب تسهیل روند تثبیت حافظه گردید. همچنین کاهش فعالیت حرکتی ایجاد شده توسط آب سرد اثرات مثبت وابستگی به مورفین را در مرحله یادگیری فضایی سرکوب نمود اما اثرات تسهیلی مورفین و آب سرد در روند تثبیت حافظه به نحوی با یکدیگر تلفیق شد که اثرات نهایی حاصله بیش از اثرات تک تک عوامل فوق به تنهایی است. از طرف دیگر، حذف مورفین در مرحله withdrawal باعث گردید که اثرات مورفین در روند یادگیری و تثبیت حافظه معکوس گردد. بررسی مکانیسم های سلولی و مولکولی موثر بر پدیده های فوق الذکر مستلزم مطالعات تکمیلی است.

تشکر و قدردانی

این مقاله موضوع طرح تحقیقاتی شماره ۸۱۰۱۵ حوزه معاونت محترم آموزشی-پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه می باشد. نویسندگان مقاله بدین وسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از مسوولین محترم حوزه مذکور اعلام می دارند. همچنین مراحل اجرایی راه اندازی بساط ماز آبی مورفین با مشاوره علمی و عملی آزمایشگاه فیزیولوژی انستیتو پاستور ایران انجام شده است که از مسوولین محترم آن آزمایشگاه نیز نهایت تشکر و قدردانی را داریم.

منابع

- [1] Mc Namara, R.K. and Skelton, R.W. Pretraining morphine impairs acquisition and performance in the morris water maze: motivation reduction rather than amnesia, *Psychobiology*, 19 (1991) 313-322.
- [۲] عریان، ش، زرین دست، م، ر، سیری، ا. بررسی تأثیرات متقابل بین مورفین و داروهای آلفا-آدرنرژیک بر روی تثبیت حافظه به روش احترازی غیرفعال در موشهای صحرایی نر نژاد ویستار، کتاب پانزدهمین کنگره فیزیولوژی-فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز (۱۳۸۰)، ۲۳۸.
- [3] Classen, W. and Mondadori, C. Facilitation or inhibition of memory by morphine: a question of experimental parameters, *Experientia*, 40 (1984) 506-509.
- [4] Badawy, A.A., Evans, C.M. and Evans, M. Production of tolerance and physical dependence in the rat by simple administration of morphine in drinking water, *Br J Pharmacol*, 75 (1982) 485-491.
- [5] Chavkin, C., Bakhit, C., Weber, E. and Bloom,

- [21] Dougherty, K.D., Walsh, T.J., Bailey, S., Schlussman, S. and Grasing, K. Acquisition of a morris water maze task is impaired during early but not late withdrawal from morphine, *Pharmacol Biochem Behav*, 55 (1996) 227-235.
- [22] Gellert, V.F. and Holtzman, S.G. Development and maintenance of morphine tolerance and dependence in the rat by scheduled access to morphine drinking solution, *J Pharmacol Exp Ther*, 205 (1978) 536-546.
- [23] Frances, H., Coudereau, J.P., Sandouk, P., Clement, M., Monier, C. and Bourre, J.M. Influence of a dietary alpha-linolenic acid deficiency on leaning in the morris water maze and on the effects of morphine, *Eur J Pharmacol*, 298 (1996) 217-225.
- [24] Means, L.W., Holsten, R.D., Long, M. and High, K.M. Scopolamine and morphine –induced deficit in water maze alternation: failure to attenuate with glucose, *Neurobiol Learn Mem*, 66 (1996) 167-175.
- [25] Rauch, T.M., Welch, D.I. and Gallego, L. Hypothermia impairs performance in the Morris water maze, *Physiol Behav*, 46 (1989) 315-320.
- [26] Taltavull, J.F., Chefer, V.I., Shippenberg, T.S. and Kiyatkin, E.A. Severe brain hypothermia as a factor underlying behavioral immobility during cold-water forced swim, *Brain Res*, 975 (2003) 244-247.
- dissociation between the spatial learning deficits produced by morphine and diazepam, *Psychopharmacol*, 108 (1992) 147-152.
- [16] Kavaliers, M., Ossenkopp, K.P., Prato, F.S., Innes, D.G., Galea, L.A., Kinsella, D.M. and Perrot –sinal, T.S. Spatial learning in deer mice: sex differences and the effects of endogenous opioids and 60 Hz magnetic fields, *J Comp Physiol A*, 179 (1996) 712-724.
- [17] Mc Namara, R.K. and Skelton, R.W. The neuropharmacological and neurochemical basis of place learning in the morris water maze, *Brain Res Rev*, 18 (1993) 33-49.
- [18] Kikusui, T., Tonohiro, T. and Kaneko, T. Simultaneous evaluation of spatial working memory and motivation by the allocentric place discrimination task in the water maze in rats, *J Vet Med Sci*, 61 (1999) 673-681.
- [19] Pourmotabbed, A., Motamedi, F., Fathollahi, Y., Mansouri, F.A. and Semnanian, S. Involvement of NMDA receptors and voltage–dependent calcium channels on augmentation of long-term potentiation in hippocampal CA1 area of morphine dependent rats, *Brain Res*, 804 (1998) 125-134.
- [20] Li, Z., Wu, C.F., Pei, G. and Xu, N.J. Reversal of morphine induced memory impairment in mice by withdrawal in morris water maze: possible involvement of cholinergic system, *Pharmacol Biochem Behav*, 68 (2001) 507-513.