مقاله پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

دوره هشتم، شماره دوم، تابستان ۱۳۸۸، ۱۳۶-۱۲۷

اثر تزریق مورفین در ناحیه CA3 هیپوکمپ بر یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرایی نر

مهشید حسین‌زاده[۱]، ایران پورابولی[۲]، مهدی عباس‌نژاد[۳]

دریافت مقاله: ۸۶/۶/۱۲ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۸۶/۹/۲۰ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۸۷/۱۲/۱۳ پذیرش مقاله: ۸۸/۲/۲۲

چکیده

زمینه و هدف: یادگیری، توانایی تغییر رفتار بر اساس تجربه و حافظه، توانایی به یاد آوردن وقایع گذشته به صورت خودآگاه یا ناخودآگاه است. یادگیری و حافظه از عملکردهای پیچیده مغزی محسوب می‌شوند که نواحی متعددی را در سیستم عصبی مرکزی درگیر می‌کنند. ایجاد تغییرات مورفولوژیکی سیناپسی پایدار خصوصاً در هیپوکمپ، اساس یادگیری و حافظه می‌باشد که عوامل مختلفی می‌توانند این روند را متأثر نمایند. در این مطالعه اثر مورفین در ناحیه CA3 هیپوکمپ بر یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرایی نر بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در ابن مطالعه تجربی تعداد ۴۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار بررسی شدند. نمونه‌ها پس از بیهوشی عمیق در دستگاه استرئوتاکسی قرار گرفتند و کانول‌گذاری دو طرفه در ناحیه CA3 هیپوکمپ انجام شد. حیوانات پس از طی یک هفته دوره بهبودی، به شش گروه تقسیم شدند. گروه‌ها شامل: گروه کنترل (فقط کانول‌گذاری شده)، گروه شاهد (دریافت‌کننده سرم فیزیولوژیک) و چهار گروه دیگر بودند که به ترتیب مورفین را با مقادیر ۱، ۵، ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم به ازای هر موش و با حجم ۱ میکرولیتر از طریق کانول‌ها به مدت ۵ روز و هر روز ۳۰ دقیقه قبل از ارزیابی یادگیری و حافظه فضایی آن‌ها با ماز آبی موریس دریافت کردند.

یافته‌ها: نتایج به دست آمده نشان داد که مورفین با مقادیر ۵، ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم منجر به تأخیر زمانی و مکانی در رسیدن به سکو در چهار روز شد. مورفین در تمام مقادیر باعث طی کردن مدت زمان و مسافت کمتری در ربع هدف در روز پنجم گردید.

نتیجه‌گیری: تزریق مورفین در ناحیه CA3 هیپوکمپ باعث اختلال در یادگیری و حافظه فضایی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: یادگیری، حافظه فضایی، مورفین، هیپوکمپ، ماز آبی موریس

۱- کارشناس ارشد گروه آموزشی فیزیولوژی جانوری، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان

۲- (نویسنده مسؤول) استادیار گروه آموزشی زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان

تلفن: ۳۲۲۲۰۳۲-۰۳۴۱، دورنگار: ۳۲۲۲۰۳۲-۰۳۴۱، پست الکترونیکی: pouraboli_i@mail.uk.ac.ir

۳- دانشیار گروه آموزشی زیست‌شناسی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-07-15]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1388.8.2.5.3]

مقدمه

یادگیری، توانایی تغییر رفتار بر اساس تجربه و حافظه، توانایی به یادآوردن وقایع گذشته به صورت خودآگاه یا ناخودآگاه است. یادگیری و حافظه از رفتارهای پیچیده مغزی محسوب می‌شوند که نواحی متعددی را در سیستم عصبی مرکزی درگیر می‌کنند [۱]. قشر مغز، آمیگدال و به خصوص هیپوکمپ نقش اساسی در تشکیل و ذخیره‌سازی حافظه فضایی دارند [۲]. مشخص شده است که ناحیه CA3 هیپوکمپ نقش مهمی در یادگیری و حافظه فضایی دارد به طوری که مهار آوران‌های تحریکی به CA3 سبب اختلال در این پدیده می‌گردد [۳]. اپیوییدها ترکیباتی هستند که مدارهای مغزی درگیر در حافظه و یادگیری را تحت تأثیر قرار می‌دهند [۵-۴]. از طرفی آموزش می‌تواند با ایجاد تغییرات مورفولوژیکی و سیناپسی پایدار در مغز باعث یادگیری شود. اخیراً مشخص شده که بین تغییرات ناشی از اپیوییدها و سیستم‌های مرتبط با یادگیری فضایی در مغز، رابطه وجود دارد. در واقع این پدیده‌ها توسط عوامل عصبی مشابهی بروز کرده و توسط تغییراتی در ساختارهای سیناپسی همراهی می‌شوند. یکی از مهم‌ترین نواحی مغزی که مسئول تغییرات سلولی و مولکولی ناشی از این پدیده‌ها می‌باشد هیپوکمپ است [۲]. در ناحیه CA3 هیپوکمپ، گیرنده‌های μ اپیوییدی که یکی از سه گیرنده مهم اپیوییدی هستند به وفور وجود دارند و مسیرهای آوران به این ناحیه نیز حاوی نوروپپتیدهای اپیوییدی می‌باشند. لذا ثابت شده است که گیرنده‌های μ اپیوییدی در CA3 هیپوکمپ در یادگیری و حافظه فضایی در موش‌های صحرایی دخالت دارند، به طوری که Meilandt و همکارانش نشان دادند مهار این گیرنده‌ها توسط آنتاگونیست آن‌ها باعث اختلال در یادگیری و حافظه فضایی می‌شود. اما باید متذکر شد که تاکنون اثر مقادیر مختلف مورفین در این ناحیه از هیپوکمپ روی یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرایی با استفاده از ماز آبی موریس بررسی نشده است [۳]. در آزمایشی که توسط McNamara و Skelton با ماز آبی موریس انجام شد مشاهده گردید که موش‌های صحرایی که با تزریق حاد مورفین داخل صفاقی تیمار شدند مسیر طولانی‌تری را برای یافتن سکو طی کردند که نشان‌دهنده کاهش یادگیری در آن‌ها بوده است، البته در طول روزهای نهایی آزمایش، موش‌های صحرایی مستقیم به سمت سکو شنا می‌کردند [۶]. Ragozzino گزارش کرد که تزریق حاد مورفین در دیواره میانی مغز باعث تخریب حافظه فضایی در موش‌های صحرایی می‌شود [۷]. یافته‌هایی هم نشان می‌دهند که اپیوییدها بر روند شکل‌پذیری سیناپسی شبکه نورونی هیپوکمپ اثر مثبت دارند [۸]. در آزمایش دیگری نشان داده شد که تجویز مورفین به صورت خوراکی به خاطرآوری حافظه را در روش احترازی غیر فعال تسهیل می‌کند و این اثر را از طریق گیرنده‌های μ اپیوییدی انجام می‌دهد [۹]. البته ذکر شده است که اثرات مورفین روی حافظه وابسته به زمان تجویز دارو هم است، به طوری که تجویز مورفین به حیوانات قبل از آموزش، باعث اختلال در یادگیری و ایجاد حافظه می‌گردد، یعنی قبل از این که حیوانات برای آزمایش شدن تحت آموزش قرار می‌گیرند تجویز مورفین باعث اختلال در حافظه و یادگیری آن‌ها می‌گردد، در حالی که تجویز مورفین بعد از این که حیوانات آموزش‌های لازم را کسب کردند و قبل از آزمایش حیوانات، باعث بهبود فراموشی القاء شده ناشی از تجویز مورفین قبل از آموزش می‌گردد [۱۱-۱۰]. البته در

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-07-15]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1388.8.2.5.3]

مورد مصرف حاد اپیوییدها و به خصوص مورفین و اثر آن بر حافظه و یادگیری تناقضاتی وجود دارد. از آن جایی که اثرات کاربرد مورفین بیشتر به صورت تجویز داخل صفاقی مطالعه شده است و تاکنون اثر آن در ناحیه CA3 هیپوکمپ روی این پدیده‌ها بررسی نشده است، هدف این مطالعه بررسی اثرات مورفین مرکزی در ناحیه CA3 هیپوکمپ روی یادگیری و حافظه فضایی بوده است.

مواد و روش‌ها

روش جراحی حیوانات و کانول‌گذاری: در این مطالعه تجربی، تعداد ۴۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۳۰۰- ۲۵۰ گرم مورد بررسی قرار گرفتند. حیوانات در ۶ گروه ۸ تایی تقسیم شده و در شرایط نور - تاریکی ۱۲ ساعته و درجه حرارت کنترل شده محیط (۲±۲۵) نگهداری می‌شدند و دسترسی کافی به آب و غذا داشتند.

برای کانول‌گذاری دوطرفه در ناحیه CA3 هیپوکمپ حیوانات با مخلوط کتامین و گزیلازین به طریق داخل صفاقی (۷۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم کتامین و ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم گزیلازین) بیهوش شده و در دستگاه استرئوتاکس قرار گرفتند. دو کانول راهنما شماره ۲۱ از جنس فولاد زنگ نزن به طور دوطرفه در ناحیه CA3 هیپوکمپ (با مختصات AP=۳/۵ از برگما، LA=±۳/۸ و DV=۲/۷ از سخت شامه) قرار داده شد [۳]. برای جلوگیری از ورود گرد و غبار یا خروج مایع مغزی نخاعی برای هر کانول درپوشی از جنس فولاد زنگ نزن شماره ۲۷ به کار برده شد. پس از جراحی، حیوانات هفت روز دوره بهبودی را طی کردند و بعد از آن به مدت پنج روز حافظه و یادگیری آن‌ها با ماز آبی موریس بررسی شد [۱۲، ۵]. برای تزریق دارو در کانول‌ها از سرنگ هامیلتون ۱۰ میکرولیتری و لوله پلی‌اتیلن با طول ۲۵ سانتی‌متر و سر سوزن شماره ۲۷ استفاده شد و تزریقات به حجم ۱ میکرولیتر در مدت ۲ دقیقه در هر کانول صورت گرفت. پس از انجام آزمایش‌ها برای تأیید محل کانول‌ها، تزریق رنگ از طریق کانول‌ها صورت گرفت و چند دقیقه بعد با کشتن حیوانات مغز آن‌ها خارج و به مدت ۲ روز در فرمالین ۲۰٪ فیکس شد. سپس با دستگاه ویبرو اسلایس برش‌های ۱۵۰ میکرونی از مغز تهیه و بعد از رنگ‌آمیزی نیسل، برش‌ها با اطلس پاکسینوس مطابقت داده شدند. داده‌های حیواناتی که محل کانول‌ها منطبق با موقعیت مورد نظر نبود حذف شدند.

گروه‌های مورد مطالعه: گروه‌های مورد آزمایش شامل: گروه کنترل (فقط کانول‌گذاری شده)، گروه شاهد (دریافت‌کننده سرم فیزیولوژیک از طریق کانول‌ها) و چهار گروه دیگر که به ترتیب مورفین را با مقادیر ۱، ۵، ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم به ازای هر موش در ناحیه CA3 هیپوکمپ از طریق کانول‌ها دریافت کردند، بودند. تزریقات به مدت ۵ روز و هر روز ۳۰ دقیقه قبل از آزمایش ماز آبی موریس صورت می‌گرفت. مورفین از شرکت داروپخش تهیه و در سرم فیزیولوژیک حل شد.

ماز آبی موریس و روش آموزش و ارزیابی یادگیری و حافظه با آن: ماز آبی موریس از یک حوضچه استوانه‌ای شکل سیاه رنگ با قطر داخلی ۱۴۰ و ارتفاع ۸۰ سانتی‌متر تشکیل شده که تا ارتفاع ۳۵ سانتی‌متر با آب ۲۱-۱۹ درجه سانتی‌گراد پر می‌شود. یک سکوی کوچک از جنس پلکسی گلاس شفاف با قطر ۱۰ سانتی‌متر که یک سانتی‌متر زیر آب است در حوضچه قرار می‌گیرد. موقعیت سکو در طول چهار روز ابتدای آزمایش ثابت است [۹].

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-07-15]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1388.8.2.5.3]

در ابتدای آزمایش‌ها سکو در مرکز ربع دایره شمال غربی حوضچه قرار گرفته و هر موش به مدت پنج روز آزمایش می‌شد. 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 می‌کند به کامپیوتر انتقال یافته و پارامترهای مختلف از جمله میانگین مدت زمان و مسافت طی شده برای یافتن سکو و سرعت حرکت حیوان در چهار روز و درصد زمان و مسافت طی شده توسط حیوان در روز پنجم در ربع دایره هدف که در طی روزهای آموزش سکو در آن قرار داشت به وسیله کامپیوتر ثبت و تجزیه و تحلیل می‌گردید. در چهار روز اول، هر روز یک دوره آموزشی (هر دوره شامل چهار کارآزمایی) انجام می‌شد. 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 می‌شد. هر یک از چهار نقطه شروع در هر دوره، یک بار استفاده می‌شد و ترتیب آن‌ها به طور تصادفی توسط کامپیوتر تعیین می‌گردید. یک کارآزمایی زمانی تمام می‌شد که موش بر روی سکو رفته و یا بدون یافتن سکو ۹۰ ثانیه سپری می‌شد. سپس ۳۰ ثانیه فرصت نشستن بر روی سکو به حیوان داده می‌شد. سه کارآزمایی باقی‌مانده نیز به همین ترتیب صورت می‌گرفت. در روز پنجم، probe trial، جهت بررسی دقت و صحت یادگیری اولیه و بررسی حافظه انجام می‌شد. در این مرحله از آزمایش، سکو از حوضچه خارج شده و حیوان فقط از یکی از نقاط فوق‌الذکر (جنوب) در آب رها می‌گردید. دمای آب برای هر موش در تمامی پنج روز آزمایش ثابت بود.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها: تفاوت در مدت زمان لازم برای یافتن سکو، مسافت طی شده و سرعت شنا کردن، برای بررسی اثر دارو بر میزان حرکت حیوان به عنوان یک عامل مداخله‌گر در روزهای آموزش، و درصد زمان و مسافت طی شده توسط حیوان در ربع دایره هدف در مرحله probe trial توسط کامپیوتر ثبت شده و با روش آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و دوطرفه با استفاده از نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. کلیه نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel ترسیم شدند.

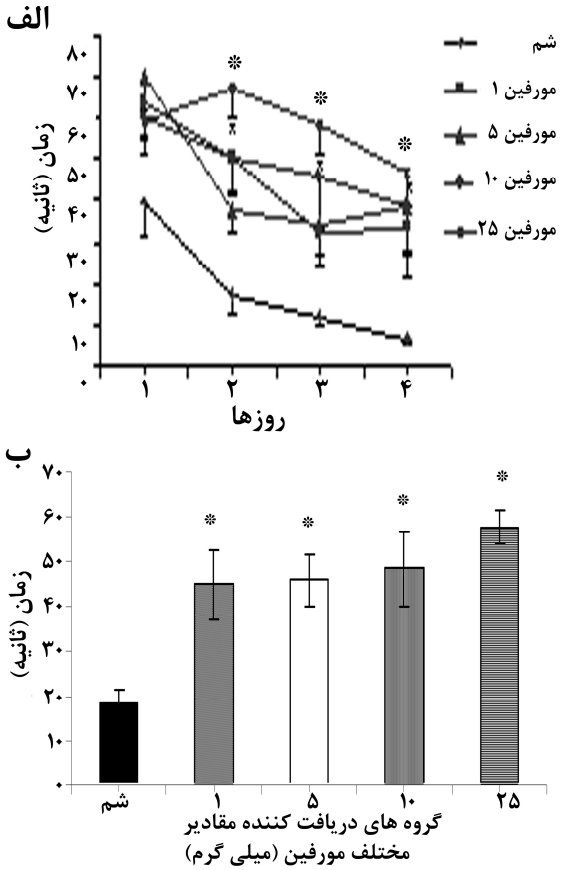
نتایج

از آن جایی که بر اساس نتایج به دست آمده هیچ تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های کنترل و شاهد وجود نداشت از ذکر نتایج گروه کنترل صرف نظر شد. سرعت شنا کردن حیوانات گروه‌های مختلف دریافت‌کننده داروها نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت. بنابراین اثر مورفین بر میزان حرکت حیوان به عنوان یک عامل مداخله‌گر در سنجش یادگیری و حافظه فضایی در ماز آبی موریس حذف شد [۱۲، ۷]. بررسی میانگین زمان لازم برای یافتن سکو در طی روزهای آموزش نشان داد که گروه دریافت‌کننده ۱ میلی‌گرم مورفین به طور معنی‌داری زمان بیشتری را نسبت به گروه شاهد جهت رسیدن به سکو در روزهای دوم، سوم و چهارم طی کرده است و بقیه گروه‌ها اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند (نمودار ۱- الف)

بررسی میانگین زمان طی شده در طی ۴ روز نشان داد که تمام گروه‌های دریافت‌کننده مورفین زمان بیشتری را به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد جهت رسیدن به سکو طی کرده‌اند (نمودار ۱ - ب).

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-07-15]

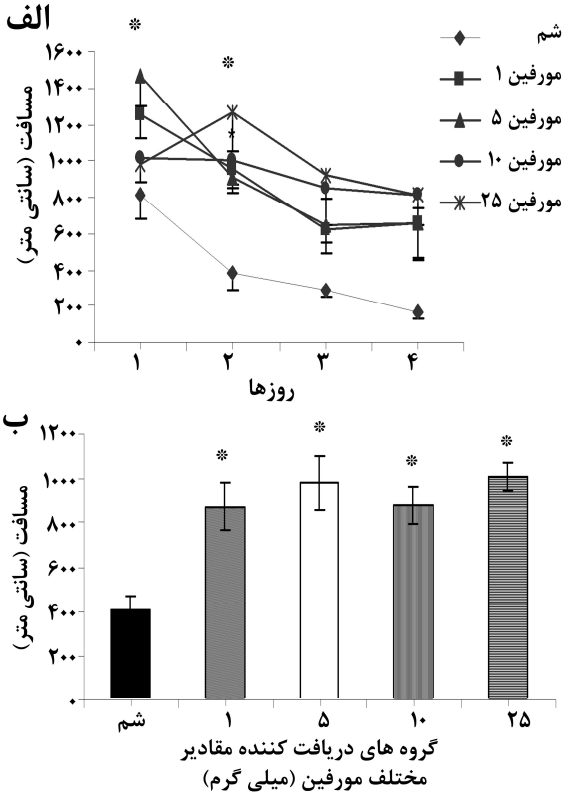
[DOR: 20.1001.1.17353165.1388.8.2.5.3]



نمودار ۱- میانگین زمان طی شده برای یافتن سکو در روزهای آموزش(الف) و در کل چهار روز (ب) در گروه‌های دریافت‌کننده مورفین با مقادیر مختلف و گروه شاهد(Sham). داده‌ها به صورت میانگین ± متوسط خطای معیار نشان داده شده است. آزمون آماری آنالیز واریانس دو طرفه و پس آزمون Tukey استفاده شده است. n=۸ ،*p<۰/۰۵.

بررسی میانگین مسافت طی شده برای یافتن سکو در طی روزهای آموزش نشان داد که در روز اول، گروه دریافت‌کننده ۵ میلی‌گرم مورفین و در روز دوم، گروه دریافت‌کننده ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم مورفین به طور معنی‌داری مسافت بیشتری را برای رسیدن به سکو نسبت به گروه شاهد طی کرده‌اند (نمودار ۲ – الف).

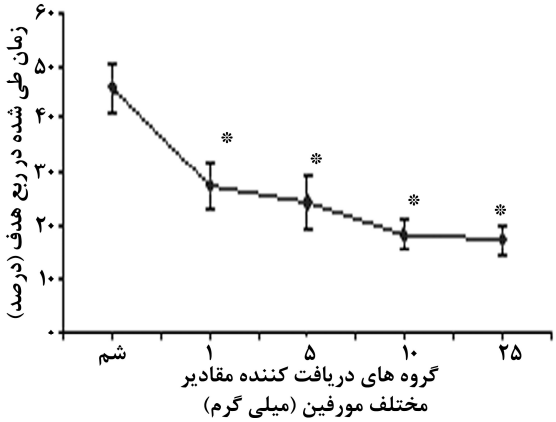
بررسی میانگین مسافت طی شده در طی ۴ روز نشان داد که تمام گروه‌های دریافت‌کننده مورفین به طور معنی‌داری مسافت بیشتری را برای رسیدن به سکو نسبت به گروه شاهد طی کرده‌اند (نمودار ۲ - ب).



نمودار ۲- میانگین مسافت طی شده برای یافتن سکو در روزهای آموزش(الف) و در کل چهار روز (ب) در گروه‌های دریافت‌کننده مورفین با مقادیر مختلف و گروه شاهد (Sham). داده‌ها به صورت میانگین ± متوسط خطای معیار نشان داده شده است، آزمون آماری آنالیز واریانس دو طرفه و پس آزمون Tukey استفاده شده است. n=۸ ،*p<۰/۰۵.

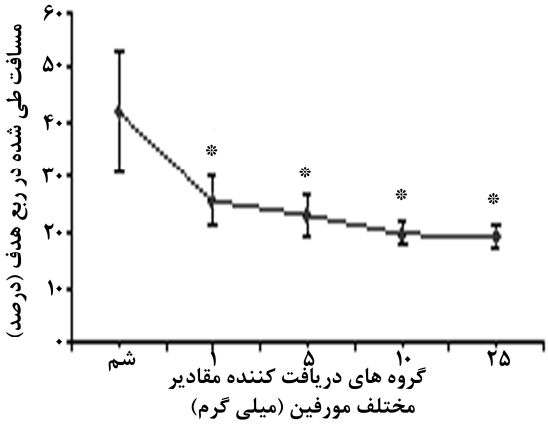
بررسی درصد زمان طی شده در ربع هدف در مرحله Probe trial در روز پنجم آزمایش نشان داد که گروه‌های دریافت‌کننده مقادیر ۱، ۵، ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم مورفین زمان کمتری را به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد در ربع هدف طی کرده‌اند ولی بین مقادیر مختلف مورفین اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (نمودار ۳).

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-07-15]
[DOR: 20.1001.1.17353165.1388.8.2.5.3]



نمودار ۳- درصد زمان طی شده در ربع هدف در روز پنجم در گروه‌های دریافت‌کننده مورفین با مقادیر مختلف و گروه شاهد (Sham). داده‌ها به صورت میانگین ± متوسط خطای معیار نشان داده شده است. از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد. n=۸ ،p<۰/۰۵*.

بررسی درصد مسافت طی شده در ربع هدف در مرحله Probe trial در روز پنجم آزمایش نشان داد که گروه‌های دریافت‌کننده مقادیر ۱، ۵، ۱۰ و ۲۵ میلی‌گرم مورفین مسافت کمتری را به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد در ربع هدف طی کرده‌اند ولی بین مقادیر مختلف مورفین اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (نمودار ۴).



نمودار ٤- درصد مسافت طی شده در ربع هدف در روز پنجم در گروه‌های دریافت‌کننده مورفین با مقادیر مختلف و گروه شاهد (Sham). داده‌ها به صورت میانگین ± متوسط خطای معیار نشان داده شده است. از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد. n=۸ ،p<۰/۰۵*.

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که افزایش مقدار مورفین در ناحیه CA3 هیپوکمپ باعث اختلال در حافظه و یادگیری شده و به طور معنی‌داری یادگیری و حافظه فضایی را کاهش داده است.

گزارش شده که مورفین باعث نقص‌های شناختی می‌شود و استفاده از اپیوییدها به ویژه مورفین حافظه و یادگیری را تحت تأثیر قرار داده و می‌تواند نورون‌زایی را در هیپوکمپ موش‌های صحرایی بالغ مهار کند [۴]. اما در مورد اثر حاد مورفین روی حافظه و یادگیری هنوز نظری با قطعیت بیان نشده است. نشان داده شده است که تجویز زیر پوستی مورفین به صورت حاد، اکتساب حافظه را در مسیرهای مختلفی مثل Y- میز و آزمایش‌های اجتنابی فعال و غیرفعال مهار می‌کند [۱۳]. Li و همکارانش گزارش کردند که تجویز زیر پوستی مورفین در موش‌های سوری به علت مهار سیستم کولینرژیکی باعث اختلال حافظه در آزمایش ماز آبی موریس می‌شود [۱۲]. Motamedi و همکاران گزارش کردند که مورفین خوراکی به صورت حاد باعث ایجاد نقص در یادگیری فضایی در آزمایش ماز آبی موریس می‌شود [۱۴]. McNamara و Skelton نشان دادند که موش‌های صحرایی که با مورفین حاد به صورت داخل صفاقی تیمار شده‌اند مسیر طولانی‌تری را برای پیدا کردن سکو در ماز آبی موریس طی می‌کنند و تمایل دارند در روزهای اولیه آزمایش مسیر بیشتری را شنا کنند اما در طول روزهای نهایی آزمایش مستقیماً به سمت سکو شنا می‌کنند [۶]. در آزمایشی که Ragozzino انجام داد مشاهده شد تزریق مورفین به صورت حاد در ناحیه آمیگدال باعث اختلال در اجرای آزمایش اجتنابی مهاری شده و در موش‌های صحرایی

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-07-15]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1388.8.2.5.3]

فراموشی ایجاد می‌کند. در واقع گفته شده که نقص ایجاد شده در اثر فعال شدن گیرنده‌های μ - اپیوییدی می‌باشد و این گیرنده‌ها در آمیگدال در یادگیری پاسخ اجتنابی درگیر هستند [۱۵]. در آزمایش اجتنابی غیرفعال هم که Zarrindast روی موش‌های سوری انجام داد مشاهده شد که تزریق زیرپوستی مورفین به صورت حاد بازیابی حافظه را مختل می‌کند [۱۶]. در تحقیق دیگری Zarrindast و همکاران نشان دادند که تزریق مورفین در ناحیه تگمنتال شکمی به صورت حاد در موش‌های سوری در آزمایش اجتنابی غیرفعال باعث تخریب بازیابی حافظه می‌گردد [۱۳]. تزریق مورفین به صورت حاد در ناحیه دیواره میانی توسط Ragozzino هم در موش‌های صحرایی باعث تخریب حافظه شد [۷]. Rezayof در آزمایش اجتنابی غیرفعال روی موش‌های سوری، نشان داد که تجویز زیر پوستی مورفین به صورت حاد یادگیری را مختل می‌کند [۱۷]. نتایج آزمایش حاضر نیز موافق با نتایج ذکر شده می‌باشد. البته نتایج ذکر شده بر اساس تزریق مورفین به صورت زیر پوستی یا داخل صفاقی و یا تزریق در نواحی مغزی به جز CA3 هیپوکمپ و بررسی اثر آن بیشتر روی یادگیری اجتنابی بوده است. هدف این مطالعه بررسی اثر تزریق مورفین روی یادگیری و حافظه فضایی بوده است. بر اساس نتایج به دست آمده مشاهده شد که مقادیر مختلف مورفین در طی چهار روز آموزش، باعث افزایش زمان و مسافت شنا کردن در موش‌ها جهت رسیدن به سکو نسبت به گروه شاهد شده‌اند که این نتیجه بیانگر کاهش یادگیری در حیوانات دریافت‌کننده مورفین است. در روز پنجم نیز با تزریق مورفین موش‌ها مسافت و زمان کمتری را نسبت به گروه شاهد در ربع هدف شنا کرده‌اند که نشان‌دهنده اختلال در حافظه فضایی موش‌ها می‌باشد.

از طرف دیگر Yang و همکاران در آزمایش ماز آبی موریس نشان دادند که تزریق مورفین به صورت داخل صفاقی باعث تقویت تشکیل ارتباطات سیناپسی می‌شود [۱۸]. Meilandt و همکارانش هم‌چنین گزارش کردند که مهار گیرنده‌های اپیوییدی باعث کاهش یادگیری و حافظه می‌شود[۳]. یکی از علل توجیه‌کننده تخریب روندهای حافظه و یادگیری در اثر تجویز حاد مورفین، وابستگی سیستم اپیوییدی با سیستم کولینرژیکی است. آگونیست‌های اپیوییدی مثل مورفین تمایل بالایی برای گیرنده‌های μ - اپیوییدی دارند و با اتصالشان به این گیرنده‌ها باعث مهار فعالیت کولینرژیکی در هیپوکمپ و کاهش رهایی استیل‌کولین در بسیاری از نواحی مغزی می‌شوند. مشاهده شده که گیرنده‌های μ - اپیوییدی در پایانه‌های کولینرژیکی وجود دارند و اتصال مورفین به این گیرنده‌ها باعث مهار سیستم کولینرژیکی می‌گردد. از آن جایی که استیل‌کولین یکی از میانجی‌های مؤثر در بهبود یادگیری و حافظه می‌باشد در نتیجه مهار رهایی آن توسط اپیوییدها اثر منفی روی حافظه و یادگیری ایجاد می‌کند [۱۲]. توجیه دیگر این پدیده هم که توسط Rezayof و همکاران ارایه شد این است که آگونیست‌های گیرنده μ - اپیوییدی با تداخل در روندهای حافظه و یادگیری باعث القاء فراموشی می‌شوند. در واقع گیرنده‌های اپیوییدی با G- پروتئین‌های نوع Gi/Go جفت شده و آدنیل سیکلاز را مهار می‌کند و فعال شدن G - پروتئین نوع Gi برای القاء فراموشی ایجاد شده توسط مورفین لازم می‌باشد [۱۷].

نتیجه‌گیری

به طور کلی نتیجه این مطالعه نشان داد که تزریق مورفین در ناحیه CA3 هیپوکمپ سبب اختلال در یادگیری و حافظه فضایی می‌گردد.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-07-15]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1388.8.2.5.3]

References

[1] Ganong WF. Review of medical physiology, 19th ed. Stanford.USA, University of California San Francisco; Applenton and Lange 1999; pp: 255-65.

[2] Nestler EJ. Common molecular and cellular substrates of addiction and memory. *Neurobiol Learn Mem* 2002; 78(3): 637-47.

[3] Meilandt WJ, Barea-Rodriguez E, Harvey SA, Martinez JLJr. Role of hippocampal CA3 mu-opioid receptors in spatial learning and memory. *J Neurosci* 2004; 24(12): 2953-62.

[4] Eisch AJ, Barrot M, Schad CA, Self DW, Nestler EJ. Opiates inhibit neurogenesis in the adult rat hippocampus. *Proc Nati Acad Sc USA* 2000; 97(13): 7579-84.

[5] Salmanzadeh F, Fathollahi Y, Semnanian S, Shafizadeh M. Dependence on morphine impairs the induction of long-term potentiation in the CA1 region of rat hippocampal slices. *Brain Res* 2003; 965(1-2): 108-13.

[6] Mcnamara RK, Skelton R. Pharmacological dissociation between the spatial learning deficits produced by morphine and diazepam. *Psychopharmacology (Berl)* 1992; 108(1-2): 147-52.

[7] Ragozzino ME, Gold PE. Glucose injections into the medial septum reverse the effects of intraseptal morphine infusions on hippocampal acetylcholine output and memory. *J Neuroscience* 1995; 68(4): 981-8.

[8] Xie CW, Lewis DV. Endogenous opioids regulate long-term potentiation of synaptic inhibition in the dentate gyrus of rat hippocampus. *J Neurosci* 1995; 15(5 pt 2): 3788-95.

[9] Pourmotabbed A, Tahmassian M, Shahi M, Karami Darabkhani H, Fathollahi Y. The effect of morphine dependency on spatial learning and memory in male rat. *Physiology and Pharmacology* 2006; 9(2): 127-37.

[10] Nishimura M, Shiigi Y, Kaneto H. State-dependent and/or direct memory retrieval by morphine in mice. *Psychopharmacology (Berl)* 1990; 100(1): 27-30.

[11] Khavandgar S, Homayoun H, Zarrindast MR. The effect of L-NAME and L-arginine on impairment of memory formation and state-dependent learning induced by morphine in mice. *Psychopharmacology (Berl)* 2003; 167(3): 291-6.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-07-15]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1388.8.2.5.3]

[12] Li Z, Wu CF, Pei G, Xu NJ. Reversal of morphine-induced memory impairment in mice by withdrawal in Morris water maze possible involvement of cholinergic system. *Pharmacol Biochem Behavi* 2001; 68(3): 507-13.

[13] Zarrindast MR, Farajzadeh Z, Rostami P, Rezayof A, Nourjah P. Involvement of the ventral tegmental area(VTA) in morphine-induced memory retention in morphine-sensitized rats. *Behav Brain Res* 2005; 163(1): 100-6.

[14] Motamedi F, Ghasemi M, Ghiafeh Davoodi F, Naghdi N. Comparison of learning and memory in morphine dependent rats using different behavioral models. *Iranian J Pharmaceutical Res* 2003; 2: 225-30.

[15] Ragozzino ME, Gold PE. Task-dependent effects of intra-amygdala morphine injections: attenuation by intra-amygdala glucose injections. *J Neurosci* 1994; 14(12): 7478-85.

[16] Zarrindast MR, Bananej M, Khalilzadeh A, Fazli-Tabaei S, Haeri-Rohani A, Rezayof A. Influence of intracerebroventricular administration of dopaminergic drugs on morphine state-dependent memory in the step-down passive avoidance test. *Neurobiol Learn Mem* 2006; 86(3): 286-92.

[17] Rezayof A, Amini R, Rassouli Y, Zarrindast MR. Influence of nitric oxide on morphine-induced amnesia and interaction with dopaminergic receptor agents. *Physiol Behav* 2006; 88(1-2): 124-31.

[18] Yang Y, Zheng X, Wang Y, Gao J, Dong Z, Cai J, et al. Stress enables synaptic depression in CA1 synapses by acute and chronic morphine: Possible mechanisms for corticosterone on opiate addiction. *Neuroscience* 2004; 24(10): 2412-20.

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-07-15]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1388.8.2.5.3]

The Effect of Morphine Injection in Ca3 Area of Hippocampus on Spatial Learning and Memory in Male Rats

M. Hosseinzade[1], I. Pouraboli[2], M. Abasnejad[3]

Received: 03/09/07 Sent for Revision:11/12/07 Received Revised Manuscript: 03/03/09 Accepted: 12/05/09

Background and Objectives: Learning is change of behavior based on experience, and memory is recalling the past events consciously or unconsciously. Learning and memory are of the higher functions in the brain that involve many regions in the central nervous system. Permanent synaptic morphological changes specially in hippocampus, are the basis of learning and memory that can be influence by many factors. In this study the effect of morphine injected in CA3 of hippocampus on spatial learning and memory in male rats was investigated.

Material and Methods: In this experimental study 48 male rats were anaesthetized and cannula implanted bilaterally in CA3 area of hippocampus(AP = 3.5 from bregma, LA = ±3.8, DV = 2.7 from dura) using stereotaxic method. After recovery period (one week), rats were divided into six groups, including: control (only cannulated), Sham (received saline) and four other groups that received doses of 1, 5, 10 or 25 milligram of morphine in 1µl solation through cannula during 5 days. Each day, 30 minutes after injection, their spatial learning and memory in morris water maze were evaluated. Throughout the experiments, animals were treated according to the suggested international ethical guidelines for the care of laboratory animals.

Results: Results showed that 5, 10 and 25 milligram cause of morphine can delay in time and distance toward the hidden platform in four days. However, in fifth day all doses of morphine caused animals to spend fewer time and distance in trigger region.

Conclusion: This study indicates that morphine injection in CA3 of hippocampus caused impairment on spatial learning and memory.

Key words: Learning, Spatial memory, Morphine, Hippocampus, Morris Water Maze

Funding: This research was funded by Kerman University of Medical Sciences.

Conflict of interest: None declared.

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

1- Master Sciences of Animal Physiology, Faculty of Sciences, Shaheed Bahonar University, Kerman, Iran
2- Assistant Prof. Dept. of Biology, Faculty of Sciences, Shaheed Bahonar University, Kerman, Iran
(Corresponding Author) Tel: (0341) 3222032, Fax: (0341) 3222032, E-mail: pouraboli_i@mail.uk.ac.ir
3- Associate Prof., Dept. of Biology, Faculty of Sciences, Shaheed Bahonar University, Kerman, Iran

[Downloaded from journal.rums.ac.ir on 2025-07-15]

[DOR: 20.1001.1.17353165.1388.8.2.5.3]