



## افزایش حساسیت به مرفین و یادگیری وابسته به حالت القا شده توسط مرفین

دکتر محمدرضا زرین دست<sup>۱</sup>

گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی

دانشگاه علوم پزشکی تهران

دکتر آمنه رضایوف

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم

دانشگاه تهران

در این مطالعه، آثار مرفین بر افزایش حساسیت به اختلال تشکیل حافظه القاء شده و به خاطر آوری وابسته به حالت (state-dependent retrieval) در یک روش اجتنابی غیرفعال آموخته شده، در موش سوری بررسی شده است. مصرف پیش از آموزش مرفین (۵ و ۲/۵ و ۰/۵ mg/kg) وابسته به دوز، قادر است یادگیری یک نوبته روش اجتنابی غیرفعال (Passive Avoidance Learning) را مهار کند. مصرف پیش از آزمون مرفین (۵ و ۲/۵ و ۰/۵ mg/kg)، باعث القای به خاطر آوری وابسته به حالت می‌گردد. اثر مهاری مرفین (۵ mg/kg) بر تشکیل حافظه، به طور معنی دار، به وسیله مصرف پیش از آموزش نالوکسان (۱ و ۰/۵ و ۰/۰۲۵ mg/kg)، قبل از مرفین پیش از آموزش، مهار می‌گردد. مصرف پیش از آزمون نالوکسان وابسته به دوز، بازگشت القا شده به وسیله مرفین (۵ mg/kg) را مهار کرد. فراموشی القا شده به وسیله مرفین، پیش از آموزش، به طور معنی داری در موش‌های حساس شده به مرفین که سه روز مرفین (۳۰ و ۲۰ mg/kg) دریافت کرده بودند، مهار گردید. افزایش حساسیت به مرفین، بر حافظه وابسته به حالت مرفین تأثیری نداشت. تزریق نالوکسان، ۳۰ دقیقه قبل از مرفین و به مدت سه روز، مهار فراموشی القا شده به وسیله مرفین را در موش‌های حساس شده به مرفین به طور معنی دار متوقف کرد. این نتایج پیشنهاد می‌کند که افزایش حساسیت به مرفین، اختلال تشکیل حافظه را تحت تأثیر قرار می‌دهد، اما بر تسهیل به خاطر آوری القا شده به وسیله مرفین بی‌تأثیر است.

### مقدمه

حساسیت رفتاری (behavioral sensitization)، افزایش پیشرونده رفتارهای القا شده به وسیله داروهای مخدر (از جمله اوپیات‌ها) است که به دنبال مصرف متناوب آنها ایجاد می‌شود. تزریق مجدد دارو به حیوانات آزمایشگاهی یا انسان بعد از مصرف

مزمن اوپیات‌ها و ایجاد یک دوره قطع، با همان مقدار قبلی یا کمتر از آن می‌تواند در واکنش‌های رفتاری، افزایش معنی‌داری ایجاد کند که به این مقدار، دوز چالش (challenge dose) گفته می‌شود. بنابراین، به نظر می‌رسد که تجربه قبلی مصرف اوپیات‌ها می‌تواند آسیب پذیری حیوانات آزمایشگاهی و یا انسان را در مقابل این مواد افزایش دهد (اسپاناکل، ۱۹۹۵). حساسیت رفتاری احتمالاً نقش مهمی در تداوم اعتیاد، به ویژه در میزان بالای عود در افراد معتاد،

<sup>۱</sup> - دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، گروه فارماکولوژی،



یادگیری و حافظه، ترکیبی از روندهای مختلف کسب، تثبیت (consolidation)، نگهداری یا ذخیره سازی (retention or storage) و به خاطر آوری (retrieval) اطلاعات می باشد (برمن، ۱۹۹۱). کسب، فرآیندی است که به موجب آن اطلاعات پس از ورود به سیستم عصبی مرکزی، در مدارهای خاصی از این سیستم که با اعمال حافظه ای مرتبط هستند (مانند هیپوکامپ)، رمزبندی می شوند. کسب در واقع مترادف یادگیری است. سپس، اطلاعات تازه کسب شده، در طی فرآیندهای تثبیت و نگهداری در مدارهای عصبی حفظ و در نهایت در حافظه بلند مدت ذخیره می گردند. ذخیره اطلاعات به وسیله انواع سیستم های نوروترانسمیتری و هورمونی تنظیم می شود.

یادگیری، ایجاد تغییر انطباقی در رفتار، به علت کسب تجربه است. منظور از تغییر این است که رفتار حیوان قبل و بعد از کسب تجربه، تفاوت معنی داری کند و انطباقی بودن تغییر هم حاکی از هدفدار بودن آن است. همه تغییرات رفتاری، از جمله رفتارهایی که در اعتیاد اوپیاتی و شروع خود تجویزی دخالت دارند، به ذخیره اطلاعات جدید در سیستم عصبی مرکزی نیازمندند. ثابت شده است که برخی از وقایع، مانند مصرف مرفین پیش از آموزش (pre-training)، حافظه را تخریب می کند. در حالی که برخی دیگر، نظیر خوردن، نوشیدن یک محلول قندی، دادن شوک الکتریکی به پا و تزریق مرفین بعد از آموزش (post-training)، باعث افزایش حافظه می شود. یکی از دلایل این افزایش می تواند تسریع یا پیشرفت فرآیند تثبیت باشد.

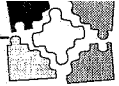
بنابراین، افزایش حافظه یکی از خواص وقایع تقویتی است (بروینز و کولپرت، ۱۹۹۹). برخی مطالعات نشان داده اند که مصرف مرفین پیش از آموزش، باعث مهار فرآیند کسب می شود (خاوندگار، همایون، ترکمن بوتراپی و زرین دست، ۲۰۰۲)، در حالی که مصرف آن قبل از آزمون (Pre-test)، باعث تسهیل فرآیند به خاطر آوری می گردد.

یکی از متداولترین مدل های رفتاری برای ارزیابی تأثیر داروهای مخدر بر یادگیری و حافظه، مدل یادگیری اجتنابی غیرفعال (PAL) است. در این مدل، حیوان یاد می گیرد که از حوادث آسیب زا به وسیله سرکوب رفتار خاصی اجتناب کند. مطالعات رفتاری نشان

بعد از یک دوره طولانی قطع، ایفا می کند (هورگر، شلتون و شنک، ۱۹۹۰).

بسیاری از تحقیقات نورواناتومی و نوروشیمیایی در زمینه حساسیت القا شده به وسیله این مواد، مؤید این مطلب است که سیستم دوپامینی مزولیمبیک و ارتباطاتش در ایجاد حساسیت رفتاری نقش مهمی ایفا می کنند (یزپورسکی و وایت، ۱۹۹۵). به دنبال تزریق یک مقدار رقابتی مرفین، افزایش حساسیت به مرفین با افزایش انتقال دوپامین در پوتامن دم دار و در بخش مرکزی هسته اکومبنس و همچنین یک واکنش کاهش یافته در بخش قشری هسته اکومبنس ایجاد شده است. به نظر می رسد که افزایش حساسیت به مرفین، نتیجه تغییرات دو جانبه در واکنش دوپامینی بخش های قشری و مرکزی هسته اکومبنس به دوز چالش مرفین باشد. علاوه بر این، نشان داده شده است که افزایش رهایی دوپامین مزولیمبیک به دنبال تزریقات متناوب مرفین ایجاد می شود و این افزایش حساسیت در سیستم مزولیمبیک، تا شش ماه بعد از قطع تزریقات مزمن مرفین، ادامه خواهد یافت. دخالت سیستم های اوپیوئیدی درونزاد در فرآیندهای حساسیت زایی مطرح شده است و به نظر می رسد که این سیستم ها نیز نقش تعدیل کننده ای در این راه ایفا می کنند. تحریک گیرنده اوپیوئیدی، برای کسب (acquisition) حساسیت ضروری است (اکواس و دی کیارا، ۱۹۹۲).

از سوی دیگر، بسیاری از مطالعات نشان داده اند که یادگیری و حافظه به وسیله اوپیوئیدها و آنتاگونیست های آنها تحت تأثیر قرار می گیرد (نیشی مورا، شی جی و کانتو، ۱۹۹۰). بر این اساس، پیشنهاد شده است که این فرآیندها در وابستگی روانی به اوپیات نقش مهمی ایفا می کنند. مرفین می تواند بر اکتساب اطلاعات یا دانستنی های جدید که یادگیری نامیده می شود و همچنین در نگهداری اطلاعات آموخته شده یا حافظه، تأثیر بسزایی داشته باشد. مرفین قادر است یادگیری و حافظه را تسهیل و یا بر عکس، تخریب کند. مطالعات نشان می دهد که این اثر دو گانه بسته به آن است که تیمار با مرفین در کدام یک از مراحل چند گانه یادگیری و حافظه صورت گیرد.



مورد استفاده قرار گرفت و آزمایش‌ها در طی دوره روشنائی-تاریکی انجام شد.

### وسایل و دستگاه‌های مورد نیاز

کلیه وسایل و دستگاه‌هایی که در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفتند، عبارت بودند از:

دستگاه یادگیری اجتنابی غیر فعال (PAL)، ترازوی دیجیتال برای تزریق دارو با دقت یک ده هزارم گرم، ترازوی حساس با دقت ۱۰ میلی گرم برای توزین موش‌ها، سرنگ‌های انسولینی برای تزریقات زیرجلدی، کروномتر جهت اندازه‌گیری زمان و قفس‌های پلاستیکی برای نگهداری حیوانات.

### مواد مورد نیاز

سرم فیزیولوژیک ۰/۹ درصد برای تزریق محیطی و حل کردن داروها؛ مرفین سولفات (ساخت شرکت تماد ایران) به صورت پودر کریستالی سفید رنگ است که به علت حساسیت باید دور از نور نگهداری شود و به علت جذب رطوبت که موجب اشتباه در توزین آن می‌شود، در ظروف دربسته نگهداری گردد؛ نالوکسان، آنتاگونیست گیرنده<sup>۱۱</sup> اوپیوئیدی که به صورت محلول در ویال‌های یکبار مصرف تهیه می‌شود؛ SKF 38393 Hcl آگونیست اختصاصی گیرنده<sup>۱۲</sup> D<sub>1</sub> دو پامینی (ساخت شرکت سیگما) به صورت پودر سفید رنگ است؛ SCH 23390، آنتاگونیست اختصاصی گیرنده<sup>۱۳</sup> D<sub>1</sub> دو پامینی (ساخت شرکت سیگما) که به صورت پودر سفید رنگ می‌باشد؛ کوئین پیزول، آگونیست اختصاصی، زیر خانواده گیرنده‌های D<sub>2</sub> (ساخت شرکت سیگما) به صورت پودر سفید رنگ؛ سولپیراید آنتاگونیست اختصاصی گیرنده<sup>۱۴</sup> D<sub>2</sub>، (ساخت شرکت سیگما) که به صورت پودر و سفید رنگ می‌باشد.

### دستگاه یادگیری اجتنابی غیر فعال (PAL)

این دستگاه بر اساس روش پایین آمدن از یک سکوی بلند یا step-down طراحی شده است. دستگاه PAL از یک جعبه مکعبی شکل چوبی با ابعاد ۴۰ × ۳۰ × ۳۰ سانتیمتر و یک استیمولاتور (Grass 544, U.S.A) تشکیل شده است. در کف این جعبه،

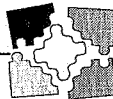
می‌دهد که معمولاً یک موش آزمایشگاهی در منطقه باز، تمایل دارد تا بیشترین زمان را در نزدیکی دیوارها و گوشه‌ها سپری کند. هنگامی که یک موش آزمایشگاهی روی یک سکوی بلند در مرکز یک محفظه مستطیلی قرار می‌گیرد، تقریباً بلافاصله پایین می‌آید و به جستجوی محفظه می‌پردازد و به دیوارها نزدیک می‌شود. اگر هنگامی که از سکوی پایین می‌آید، شوک الکتریکی به پاهایش وارد شود، حیوان یاد می‌گیرد که پایین آمدن از سکوی زیان‌آور است. در این مدل می‌توان فرآیند به خاطر آوری را با قرار دادن مجدد حیوان روی سکوی و اندازه‌گیری مدت زمانی که طول می‌کشد تا حیوان از سکوی پایین بیاید؛ یعنی تأخیر (latency) آزمود.

اکثر مطالعات صورت گرفته روی افزایش حساسیت به مرفین، به سنجش فعالیت حرکتی و روش‌های ارزیابی پاداش پرداخته شده و هیچ‌گونه مطالعه‌ای روی آثار این حساسیت زایی بر یادگیری و حافظه صورت نگرفته است؛ از این رو، تحقیق حاضر بر این اساس طراحی شده است که با استفاده از روش یادگیری اجتنابی غیر فعال، فرآیندهای یادگیری و حافظه را پس از القای افزایش حساسیت به مرفین ارزیابی کند.

### روش

#### حیوانات آزمایشگاهی و شرایط نگهداری آنها

در این تحقیق، از موش‌های کوچک آزمایشگاهی (سوری) نر (mice) بالغ از نژاد Albino-NMRI، با وزن تقریبی ۲۵-۲۰ گرم که در گروه‌های ۱۰ تایی در قفس‌های مخصوص نگهداری می‌شدند، استفاده شده است. کلیه حیوانات از انستیتو پاستور ایران تهیه و در محلی با دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتیگراد و دوره تاریکی-روشنایی ۱۲ ساعته مراقبت شدند. در تمامی مدت نگهداری، به جز هنگام آزمایش، حیوانات به راحتی به آب و غذا دسترسی داشتند. غذای آنان از کارخانه خوراک دام پارس به صورت آماده تهیه و از آب تصفیه شده تهران استفاده شد. برای عادت دادن حیوانات به محیط و حذف استرس‌های ناشی از جا به جایی، یک هفته قبل از شروع هر گونه آزمایش، حیوانات به محل مورد نظر منتقل شدند. در تمامی آزمایش‌ها، هر حیوان فقط یک بار



### آزمایش اول: اثر مصرف پیش از آموزش مرفین، بر یادگیری اجتنابی غیر فعال (PAL)

در این آزمایش، از چهار گروه از حیوانات ده تایی استفاده شد. یک گروه از آنها، ۳۰ دقیقه قبل از مرحله آموزش، یک تزریق زیر جلدی سالین (۱۰ ml/kg S.C.) دریافت کردند و در روز آزمون نیز ۳۰ دقیقه قبل از سنجش به خاطر آوری، مجدداً با تزریق زیر جلدی سالین (۱۰ ml/kg S.C.) تیمار شدند. سه گروه دیگر از حیوانات، ۳۰ دقیقه قبل از مرحله آموزش، به صورت زیر جلدی مقادیر مختلف مرفین (۵ mg/kg و ۲/۵ و ۰/۵) دریافت کردند و در روز آزمون، قبل از سنجش به خاطر آوری، با تزریق زیر جلدی سالین (۱۰ mg/kg, S.C.) تیمار شدند و سپس زمان تأخیر آنها در به خاطر آوری ثبت گردید.

### آزمایش دوم: اثر مصرف پیش از آزمون مرفین، بر فراموشی القا شده به وسیله مرفین

در این آزمایش ۳۰ دقیقه قبل از مرحله اکتساب، به چهار گروه از حیوانات مقدار ۵ mg/kg مرفین به صورت زیر جلدی تزریق شد و سپس مرحله آموزش برای تمامی آنها اجرا گردید. در روز آزمون، ۳۰ دقیقه قبل از سنجش به خاطر آوری، به سه گروه از آنها مقادیر مختلف مرفین (۵ mg/kg و ۲/۵ و ۰/۵) به صورت زیر جلدی تزریق شد و گروه چهارم به جای مرفین، سالین (۱۰ ml/kg, S.C.) دریافت نمودند و سپس زمان تأخیر آنها ثبت گردید.

### آزمایش سوم: اثر آنتاگونیست گیرنده اوپیوئیدی همراه با مرفین، بر یادگیری اجتنابی غیر فعال (PAL)

در این آزمایش، به منظور بررسی دخالت گیرنده اوپیوئیدی در چگونگی تأثیر مرفین بر PAL، از نه گروه ۱۰ تایی موش سوری استفاده شد. دو گروه از آنها، ۳۰ دقیقه قبل از آموزش، یک تزریق زیر جلدی سالین (۱۰ ml/kg) یا مرفین (۵ mg/kg) دریافت کردند و ۳۰ دقیقه قبل از سنجش به خاطر آوری، به صورت زیر جلدی فقط به آنها سالین (۱۰ ml/kg, S.C.) تزریق شد. گروه سوم، ۳۰ دقیقه قبل از آموزش و همچنین ۳۰ دقیقه قبل از سنجش به یاد آوری، یک تزریق زیر جلدی مرفین (۵ mg/kg) دریافت کرد.

میله‌های ضد زنگ با فواصل یک سانتیمتر از یکدیگر قرار گرفته‌اند. این میله‌ها به یک مدار الکتریکی وصل‌اند و با روشن شدن کلید مدار، جریان الکتریکی با مدت، شدت و فرکانس مشخص از کف آن عبور می‌کند (1HZ, 055, 40 VDC). در قسمت وسط این کف نرده‌ای، یک سکوی چوبی با ابعاد ۴ × ۴ × ۴ سانتیمتر قرار گرفته است که محل قرار گرفتن حیوان می‌باشد. این دستگاه به منظور استفاده از موش‌های کوچک آزمایشگاهی (سوری) طراحی شده است.

### روش یادگیری اجتنابی غیر فعال (PAL)

این روش بر طرح پایین آمدن از یک سکوی بلند، پایه ریزی و در آن از موش‌های سوری استفاده شده است. در این روش، یک برنامه دو روزه با دو مرحله مشخص اجرا گردید. این دو مرحله عبارت‌اند از: الف) مرحله آموزش (training) یا اکتساب (acquisition)؛ ب) مرحله آزمون (testing) یا سنجش ذخیره حافظه (retention test).

الف) مرحله آموزش یا اکتساب: در این مرحله، ابتدا هر موش سوری به آرامی روی سکوی چوبی دستگاه PAL قرار می‌گرفت. هنگامی که حیوان از سکوی چوبی پایین می‌آمد و تمامی اندام‌های حرکتی او روی میله‌های فلزی کف دستگاه قرار می‌گرفت، شوک الکتریکی (1HZ, 40VDC) به مدت ۱۵ ثانیه به حیوان وارد می‌شد. بلافاصله بعد از وارد آمدن شوک، حیوان از دستگاه خارج و به قفس خود بازگردانده می‌شد.

ب) مرحله آزمون یا سنجش به خاطر آوری: ۲۴ ساعت بعد از آموزش، حیوان مجدداً روی سکوی چوبی دستگاه PAL قرار می‌گرفت. مدت زمانی که طول می‌کشید تا حیوان به طور کامل (چهار دست و پا) از سکو پایین بیاید، به عنوان تأخیر در پایین آمدن از سکو (step-down latency) ثبت می‌شد. حداکثر زمان آزمون ۱۸۰ ثانیه بود و در صورتی که حیوان در طول این مدت از سکو پایین نمی‌آمد، از داخل دستگاه برداشته و زمان تأخیر برای حیوان ۱۸۰ ثانیه در نظر گرفته می‌شد. در هر گروه آزمایشی، از ۱۰ موش سوری استفاده شد.



(۵ mg/kg, S.C.) تزریق شد و در نهایت وارد مرحله آزمون شدند و زمان تأخیر پایین آمدن از سکو برای آنها ثبت گردید.

### آزمایش ششم: مهار اثر افزایش حساسیت به مرفین به وسیله آنتاگونیست گیرنده اوپیوئیدی، بر مصرف پیش از آموزش مرفین، در یادگیری اجتنابی غیر فعال

به سه گروه از حیوانات ۱۰ تایی، در سه روز متوالی روزی یک بار، مقادیر مختلف نالوکسان (۲ mg/kg و ۱ و ۰/۵) به صورت زیر جلدی تزریق شد و ۶۰ دقیقه بعد از آن، با یک تزریق زیر جلدی مرفین (۲۰ mg/kg, S.C.) تیمار شدند. گروه کنترل، طی این سه روز به جای نالوکسان، سالی (۱۰ ml/kg, S.C.) دریافت کرد. پنج روز پس از آخرین تزریق، تمامی حیوانات وارد مراحل PAL شدند.

۳۰ دقیقه قبل از مرحله آموزش، ۵ mg/kg از مرفین به صورت زیر جلدی دریافت کردند و ۳۰ دقیقه قبل از سنجش به خاطر آوری، به آنها سالی (۱۰ ml/kg, S.C.) تزریق شد و در نهایت زمان تأخیر پایین آمدن از سکو برای آنها ثبت گردید.

### آنالیز آماری

در تمامی این آزمایش‌ها، زمان تأخیر در پایین آمدن از سکو یک چهارم ثانیه گزارش شده است. کلیه داده‌ها، با استفاده از روش Kruskal-Wallis غیر پارامتری که نوعی آنالیز واریانس یکطرفه است، مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. به دنبال آن، آزمون آماری مکمل با استفاده از روش Mann-Whitney's U برای مقایسه بین گروهی صورت گرفت و اختلاف با  $P < 0/05$  به عنوان تفاوت معنی دار در نظر گرفته شد. برای انجام دقیق محاسبات آماری، از نرم افزارهای کامپیوتری STATISTICA و SPSS و به منظور رسم دقیق نمودارها، از نرم افزار EXCEL استفاده شد.

سه گروه دیگر حیوانات، ۶۰ دقیقه قبل از تزریق زیر جلدی مرفین (۵ mg/kg)، یک تزریق زیر جلدی نالوکسان، آنتاگونیست گیرنده اوپیوئیدی (۱ mg/kg و ۰/۵ و ۰/۲۵) دریافت کردند و پس از ۳۰ دقیقه وارد مرحله آموزش شدند. در روز آزمون، ۳۰ دقیقه قبل از سنجش به خاطر آوری، فقط به آنها سالی تزریق شد. در نهایت، سه گروه باقیمانده، ۳۰ دقیقه قبل از آموزش، یک تزریق زیر جلدی مرفین (۵ mg/kg) دریافت کردند و در روز آزمون، ۳۰ دقیقه قبل از مرفین (۵ mg/kg) ابتدا نالوکسان (۱ mg/kg, S.C.) و ۰/۵ و ۰/۲۵ دریافت کرد و ۳۰ دقیقه بعد از تزریق زیر جلدی مرفین، به خاطر آوری آنان سنجیده شد.

### آزمایش چهارم: اثر افزایش حساسیت به مرفین، بر مصرف پیش از آموزش مرفین در یادگیری اجتنابی غیر فعال

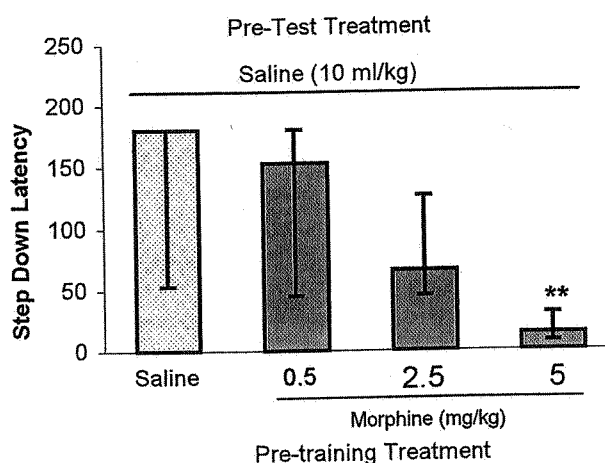
چهار گروه از حیوانات ۱۰ تایی، تزریق زیر جلدی مقادیر مختلف مرفین (۳۰ mg/kg, S.C. و ۲۰ و ۱۰) یا سالی (۱۰ ml/kg, S.C.) دریافت کردند و سپس مرحله آموزش برای آنها اجرا گردید. در روز آزمون نیز، ۳۰ دقیقه قبل از سنجش به خاطر آوری، به همه حیوانات سالی (۱۰ ml/kg, S.C.) تزریق شد و سپس سنجش به خاطر آوری یا زمان تأخیر پایین آمدن از سکو برای آنها ثبت گردید.

### آزمایش پنجم: اثر افزایش حساسیت نسبت به مرفین بر یادگیری وابسته به حالت القا شده توسط مرفین

در این آزمایش، از چهار گروه حیوانات ۱۰ تایی استفاده شد. ابتدا، در سه گروه افزایش حساسیت به مرفین ایجاد شد؛ به این ترتیب که سه روز متوالی، روزی یک بار مقادیر مختلف مرفین (۳۰ mg/kg, S.C. و ۲۰ و ۱۰) به صورت زیر جلدی تزریق گردید و به حیوانات گروه کنترل، در این سه روز به جای مرفین، سالی (۱۰ ml/kg, S.C.) تزریق شد. پس از پنج روز، همه حیوانات وارد مراحل یادگیری شدند و به همگی آنها ۳۰ دقیقه قبل از آموزش و ۳۰ دقیقه قبل از سنجش به خاطر آوری، مرفین



**شکل ۱-** اثر تزریق زیر جلدی مقادیر مختلف مرفین، بر زمان تأخیر در پایین آمدن از سکو در یادگیری اجتنابی غیر فعال. یک گروه از حیوانات، قبل از آموزش و قبل از سنجش به خاطر آوری یک تزریق زیر جلدی سالین (ml/kg) ۱۰ دریافت کردند. در حالی که به سایر گروه‌ها قبل از آموزش، مقادیر مختلف از مرفین تزریق شد. هر ستون، نمایشی از میانه (median) و محدوده اطمینان ۹۵ درصدی در ۱۰ حیوان می‌باشد.  
 $P < 0.01$  \*\* در مقایسه با گروه مرفین / سالین.



## نتایج

### آزمایش اول: اثر مصرف پیش از آموزش مرفین، بر یادگیری اجتنابی غیر فعال

شکل ۱ نشان‌دهنده اثر تزریق زیر جلدی مقادیر مختلف مرفین (۵ mg/kg و ۲/۵ و ۰/۵)، قبل از مرحله آموزش، بر زمان تأخیر به خاطر آوری می‌باشد. آزمون آماری ANOVA یکطرفه غیر پارامتری Kruskal-Wallis بیانگر آن است که تیمار با مقادیر مختلف مرفین، زمان تأخیر در پایین آمدن از سکو را به طور معنی داری در حیوان کاهش می‌دهد [  $P < 0.001$  و  $H(3) = 15.65$  ]. آنالیزهای بیشتر با آزمون آماری Mann-Whitney's U حاکی از افزایش معنی دار این زمان در مرحله آزمون، در حیواناتی است که فقط با سالین تیمار شده‌اند. در مقایسه، مصرف پیش از آموزش ۵ mg/kg از مرفین، به طور معنی دار باعث کاهش زمان تأخیر در پایین آمدن از سکو شد ( $P < 0.01$ ).

### آزمایش دوم: اثر مصرف پیش از آزمون مرفین، بر فراموشی القا شده به وسیله مرفین

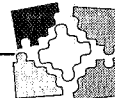
شکل ۲ نشان می‌دهد که مصرف پیش از آزمون مقادیر مختلف مرفین (۵ mg/kg، ۲/۵ و ۰/۵)، باعث کاهش معنی دار فراموشی القا شده به وسیله ۵ mg/kg مرفین می‌شود [  $P < 0.001$  ]. ANOVA: H (3) = 19.14 یکطرفه غیر پارامتری Kruskal

Wallis [، همچنین، آزمون آماری مکمل Mann-Whitney's U بیانگر آن است که مصرف ۲/۵ mg/kg ( $P < 0.001$ ) و ۵ mg/kg ( $P < 0.001$ ) مرفین، پیش از آزمون، در مقایسه با گروهی که مصرف پیش از آموزش مرفین باعث فراموشی آنها شده، به طور معنی دار باعث افزایش زمان تأخیر در پایین آمدن از سکو شده است.

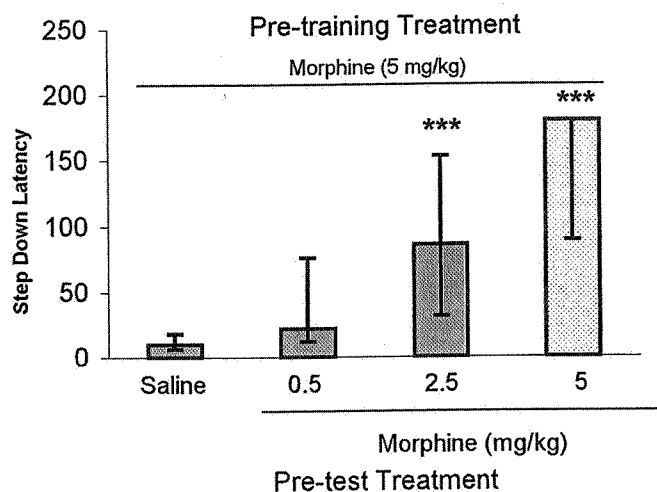
### آزمایش سوم: اثر آنتاگونیست گیرنده اوبیوئیدی، همراه با مرفین، بر یادگیری اجتنابی غیر فعال

شکل ۳ نشان می‌دهد که مصرف پیش از آموزش مقادیر مختلف نالوکسان (۱ mg/kg، S.C. و ۰/۵ و ۰/۲۵) از القای فراموشی ناشی از مرفین (۵ mg/kg) جلوگیری می‌کند [  $P < 0.01$ ،  $H(3) = 14.37$  ]. همچنین ANOVA: H یکطرفه غیر پارامتری Kruskal-Wallis [، همچنین آزمون آماری مکمل، بیانگر افزایش زمان تأخیر در پایین آمدن از سکو می‌باشد و بیشترین واکنش را به گروه‌هایی نسبت داده است که پیش از آموزش ۰/۵ mg/kg یا ۱ mg/kg ( $P < 0.01$ ) نالوکسان دریافت کرده‌اند.

علاوه بر این، نتایج آزمون آماری ANOVA یکطرفه غیر پارامتری Kruskal-Wallis نشان می‌دهد که مصرف مقادیر مختلف نالوکسان پیش از آزمون، از کاهش فراموشی القا شده به وسیله مرفین جلوگیری می‌کند [  $P < 0.01$  و  $H(3) = 12.99$  ].



شکل ۲- اثر مصرف پیش از آزمون مرفین بر فراموشی القا شده به وسیله مرفین. کلیه حیوانات، قبل از مرحله آموزش، یک تزریق زیر جلدی مرفین (۵mg/kg) دریافت کردند. در روز آزمون، به یک گروه از آنها قبل از سنجش به خاطر آوری، سالین و به سه گروه باقیمانده، مقادیر مختلف مرفین (۵ mg/kg و ۲/۵ و ۰/۵) تزریق شد و سپس زمان تاخیر در پایین آمدن از سکو در همگی آنها ثبت گردید. هر ستون، نمایشی از میانه (median) و محدوده اطمینان ۹۵ درصدی در ۱۰ حیوان می باشد.  $P < ۰/۰۰۱$  در مقایسه با گروه مرفین / سالین.



شکل ۵ بیانگر آن است که افزایش حساسیت به مرفین، به وسیله تزریق زیر جلدی مقادیر مختلف مرفین (۳۰ و ۲۰ و ۱۰) به مدت سه روز و قطع آن به مدت پنج روز، باعث کاهش یادگیری وابسته به حالت القا شده به وسیله مرفین در مقایسه با گروه کنترل شده است، ولی این کاهش، بر طبق آزمون آماری ANOVA یک طرفه غیر پارامتری Kruskal-Wallis معنی دار نمی باشد [  $H(۳) = ۲/۱۱$  و  $P < ۰/۰۵$  ].

آزمایش ششم: مهار اثر افزایش حساسیت به مرفین به وسیله آنتاگونیست گیرنده اوپیوئیدی، بر مصرف پیش از آموزش مرفین در یادگیری اجتنابی غیر فعال  
شکل ۶ نشان می دهد که مصرف مقادیر مختلف نالوکسان (۲ mg/kg, S.C. و ۰/۵)، قبل از تزریق متوالی مرفین (۵ mg/kg, S.C. ۲۰)، باعث مهار اثر افزایش حساسیت به مرفین بر مصرف پیش از آموزش مرفین (۵ mg/kg) بر زمان تأخیر می شود [  $P < ۰/۰۰۰۱$  و  $H(۳) = ۱۸/۳۳$  ANOVA یکطرفه غیر پارامتری Kruskal-Wallis]. بررسی های بیشتر با آزمون آماری Mann-Whitney's U نشان داد که افزایش حساسیت به مرفین با مقادیر ۲۰ و ۳۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن حیوان، باعث مهار فراموشی القا شده به وسیله مرفین (۵ mg/kg) شده است ( $P < ۰/۰۱$ ).

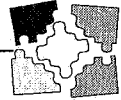
آزمایش پنجم: اثر افزایش حساسیت به مرفین، بر یادگیری وابسته به حالت القا شده به وسیله مرفین

بیشترین اثر به وسیله مقادیر بیشتر نالوکسان (۱ mg/kg, S.C.) و (۰/۵) به دست آمد ( $P < ۰/۰۱$ : آزمون Mann-Whitney's U).

آزمایش چهارم: اثر افزایش حساسیت به مرفین، بر مصرف پیش از آموزش مرفین در یادگیری اجتنابی غیر فعال

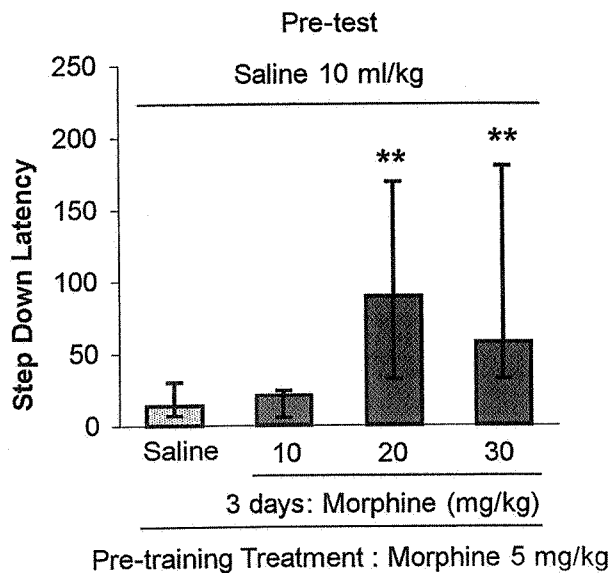
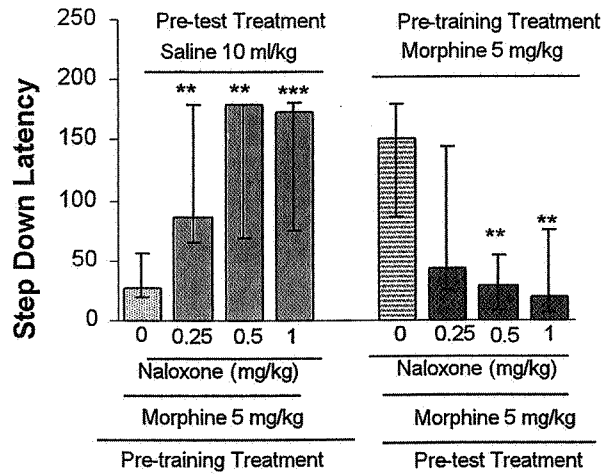
همان طور که در شکل ۴ می توان مشاهده نمود، افزایش حساسیت به مرفین به وسیله تزریق زیر جلدی مقادیر مختلف مرفین (۳۰ و ۲۰ و ۱۰)، به مدت سه روز متوالی و قطع آن به مدت پنج روز، به طور معنی دار باعث کاهش اثر مصرف پیش از آموزش مرفین (۵ mg/kg) بر زمان تأخیر می شود [  $P < ۰/۰۰۰۱$  و  $H(۳) = ۱۸/۳۳$  ANOVA یکطرفه غیر پارامتری Kruskal-Wallis]. بررسی های بیشتر با آزمون آماری Mann-Whitney's U نشان داد که افزایش حساسیت به مرفین با مقادیر ۲۰ و ۳۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن حیوان، باعث مهار فراموشی القا شده به وسیله مرفین (۵ mg/kg) شده است ( $P < ۰/۰۱$ ).

آزمایش پنجم: اثر افزایش حساسیت به مرفین، بر یادگیری وابسته به حالت القا شده به وسیله مرفین



**شکل ۳** - اثر نالوکسان، آنتاگونیست گیرنده اوبیوئیدی، همراه با مرفین بر یادگیری اجتنابی غیر فعال. دو گروه از حیوانات قبل از آموزش، یک تزریق زیر جلدی مرفین (۵ mg/kg) و قبل از آزمون، یک تزریق زیر جلدی سالیین (۱۰ ml/kg) یا مرفین (۵ mg/kg) دریافت کردند. به سه گروه دیگر، در روز آموزش و ۶۰ دقیقه قبل از مرفین (۵ mg/kg, S. C.) مقادیر مختلف نالوکسان (۱ mg/kg, ۰/۵ و ۰/۲۵) و در روز آزمون، ولی قبل از اجرای آن سالیین (۱۰ ml/kg, S.C.) تزریق شد. سه گروه باقیمانده از حیوانات، قبل از آموزش، یک تزریق زیر جلدی مرفین و پیش از مرحله آزمون و ۶۰ دقیقه قبل از مرفین (۵ mg/kg)، یک تزریق زیر جلدی نالوکسان (۱ mg/kg و ۰/۵ و ۰/۲۵) دریافت کردند و آن گاه زمان تاخیر پایین آمدن از سکو در همگی آنها ثبت گردید. هر ستون، نمایشی از میانه (median) و محدوده اطمینان ۹۵ درصدی در ۱۰ حیوان می باشد.

$P < 0.001$  و  $P < 0.01$  در مقایسه با گروه مرفین / سالیین و  $P < 0.01$  در مقایسه با گروه مرفین / مرفین.



**شکل ۴** - افزایش حساسیت به مرفین در موش های سوری و اثر آن بر فراموشی القا شده به وسیله مرفین. در طی سه روز متوالی، به چهار گروه از حیوانات مقادیر مختلف مرفین (۳۰ و ۲۰ و ۱۰) یا سالیین (۱۰ ml/kg) به صورت زیر جلدی تزریق شد و پنج روز پس از آخرین تزریق، تمام حیوانات یک تزریق زیر جلدی مرفین (۵ mg/kg) دریافت کردند و وارد مرحله آموزش شدند. در روز آزمون، قبل از سنجش به خاطر آوری یک تزریق زیر جلدی سالیین (۱۰ mg/kg) صورت گرفت و سپس زمان تاخیر در پایین آمدن از سکو ثبت گردید. هر ستون، نمایشی از میانه (median) و محدوده اطمینان ۹۵ درصدی در ۱۰ حیوان می باشد.

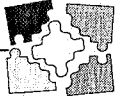
$P < 0.01$  در مقایسه با گروه کنترل (سه روز سالیین / پنج روز قطع).

## بحث

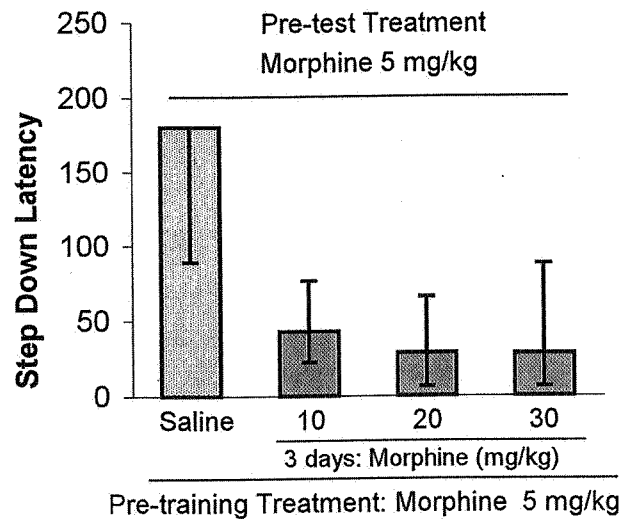
یک مدل یادگیری اجتنابی غیر فعال به طور معنی دار کاهش می دهد. در حالی که مصرف قبل از آزمون مرفین قادر است فراموشی القا شده وابسته به مقدار را در موش هایی که پیش از

این تحقیق نشان می دهد که تزریق زیر جلدی پیش از آموزش مرفین (۵ mg/kg)، مدت زمان تأخیر را در موش های سوری، در



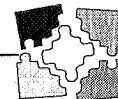


**شکل ۵-** اثر افزایش حساسیت به مرفین بر یادگیری وابسته به حالت القا شده توسط مرفین در موش‌های سوری. سه روز متوالی، به چهار گروه از حیوانات مقادیر مختلف مرفین (۳۰، ۲۰ و ۱۰) یا سالیین (۱۰ ml/kg) به صورت زیر جلدی تزریق شد و پنج روز پس از آخرین تزریق، قبل از آموزش و قبل از آزمون همگی آنها یک تزریق زیرجلدی مرفین (۵ mg/kg) دریافت کردند و آن‌گاه در تمامی حیوانات زمان تأخیر به خاطر آوری ثبت گردید. هر ستون، نمایشی از میانه (Median) و محدوده اطمینان ۹۵ درصدی در ۱۰ حیوان می‌باشد.

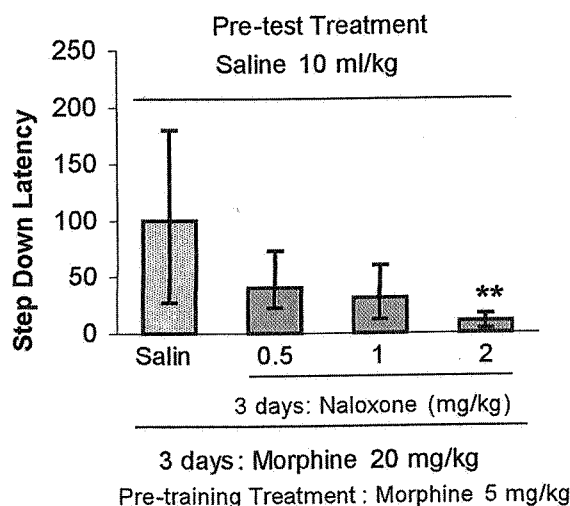


یادگیری اجتنابی غیر فعال به عنوان مدلی از یادگیری، مورد استفاده گسترده قرار گرفته است. مزیت استفاده از مهارت اجتنابی غیر فعال یک نویته (که در مطالعه حاضر به کار گرفته شد)، آن است که یادگیری و حافظه ایجاد شده ناشی از وارد شدن شوک به کف پای حیوان، فقط با یک تجربه به وجود آمده است. در این مدل، حیوان یاد می‌گیرد که برای دوری از حوادث مضر (شوک الکتریکی به کف پا)، تمایل ذاتی خود را (پایین آمدن از ارتفاع) سرکوب نماید. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که مرفین، یادگیری و حافظه را تحت تأثیر قرار می‌دهد و قادر به ایجاد یادگیری وابسته به حالت است. موافق با گزارش‌های قبلی، اطلاعات حاضر نشان می‌دهد که آموزش حیواناتی که قبلاً تحت تأثیر اثرات پاداشی مرفین (۵ mg/kg) قرار گرفته‌اند با موفقیت صورت نمی‌گیرد، به طوری که در موقعیت بدون مرفین و یا بعد از مصرف سالیین، زمان تأخیر در پایین آمدن از سکو به شدت کاهش می‌یابد و چنانچه قبل از آزمون، مجدداً همان مقدار مرفین (۵ mg/kg) مصرف گردد، زمان تأخیر در پایین آمدن از سکو، افزایش می‌یابد و لذا در صورت حضور مجدد مرفین، امکان دستیابی درباره به اطلاعات ذخیره شده در حافظه فراهم می‌شود که این ذخیره سازی حافظه هم وابسته به زمان (سیگل، ۱۹۸۸) و هم وابسته به مقدار می‌باشد. همان‌طور که در مطالعه حاضر نشان داده شد، تزریق زیر جلدی نالوکسان قبل از مرفین قادر است اثرات القا شده به وسیله مرفین را

آموزش نیز مرفین دریافت کرده اند، از بین ببرد. این نتیجه حاکی از یادگیری وابسته به حالت برای مرفین است. منظور از یادگیری وابسته به حالت یا حصول مجدد وابسته به حالت، آن است که دانش و یا پاسخی که حیوان در حالت ویژه (مانند گرفتن دارو قبل از آموزش یا تحت تأثیر یک دارو قرار گرفتن) آموخته و یا کسب کرده است، فقط در صورتی مجدداً حاصل می‌شود که حیوان در همان موقعیت یا حالت قرار بگیرد. نتایج مؤید آن است که یادگیری و حافظه تحت تأثیر مرفین قرار می‌گیرد که این یافته با نتایج مطالعات قبلی مطابقت دارد. تحقیقات نشان داده‌اند که سیستم اویپوئیدی درونزاد در کسب و ذخیره حافظه دخالت دارد (واکارینو، اولسون و کاستین، ۱۹۹۸) و چنانچه آگونیست‌های گیرنده اویپوئیدی، پس از آموزش تزریق شوند، می‌توانند نگهداری یا ذخیره سازی حافظه وابسته به مقدار و همچنین وابسته به زمان را تخریب کنند. این اثرات تخریبی به وسیله آنتاگونیست گیرنده اویپوئیدی؛ یعنی نالوکسان، برگشت پذیر است که این امر نشاندهنده دخالت این گیرنده‌ها در این پدیده است (کاستلانو، پاوون و پوگلیسی آلگرا، ۱۹۹۴). علاوه بر این، مصرف پس از آموزش مقادیر متوسط مرفین (۱۰ و ۵)، به خاطر آوری را در مدل‌های یادگیری از بین می‌برد (بروئینز و کولپرت، ۱۹۹۶). برای سنجش حافظه و یادگیری در حیوانات آزمایشگاهی، الگوهای رفتاری متعدد وجود دارد، اما در طی سال‌های اخیر



**شکل ۶-** مهار اثر افزایش حساسیت به مرفین، بر مصرف پیش از آموزش مرفین به وسیله نالوکسان. سه روز متوالی به چهار گروه از حیوانات ابتدا مقادیر مختلف نالوکسان (۲ mg/kg, S.C.) و ۱ و ۰/۵ یا سالین (ml/kg, S.C.) (۱۰) و پس از ۶۰ دقیقه مرفین (۲۰ mg/kg, S.C.) تزریق شد. پنج روز پس از آخرین تزریق و قبل از آموزش، همگی آنها یک تزریق زیر جلدی مرفین (۵ mg/kg, S.C.) دریافت کردند و در روز دهم قبل از مرحله آزمون، به آنها به صورت زیر جلدی سالین تزریق شد و سپس زمان تاخیر در پایین آمدن از سکو ثبت گردید. هر ستون، نمایشی از میانه (Median) و محدوده اطمینان ۹۵ درصدی در ۱۰ حیوان می باشد.  $P < 0.01$  \*\* در مقایسه با گروه کنترل (سه روز مرفین / پنج روز قطع).



در حقیقت، اکثر محرک‌هایی که قادر به القای حساسیت رفتاری می باشند، توانایی تحریک انتقال دوپامین را یا به طور مستقیم، از طریق فعالیت گیرنده‌های دوپامینی و یا به طور غیر مستقیم، از طریق افزایش دوپامین خارج سلولی به عهده دارند. بنابراین، آگونیست‌های گیرنده‌های دوپامینی، نیکوتین و اوپیات‌ها قادر به القای حساسیت رفتاری می باشند (دی کیارا، ۱۹۹۵). برخی مطالعات نشان می دهند که دوپامین در افزایش حساسیت به مرفین اهمیت دارد، زیرا به کارگیری آنتاگونیست‌های گیرنده‌های دوپامینی باعث عدم القای آن می شود (گیروس و همکاران، ۱۹۸۹). از آنجا که دخالت دوپامین در یادگیری و حافظه نیز مطرح شده است و القای حساسیت زایی باعث افزایش عملکرد دوپامین می شود، می توان نتیجه گرفت که اثر مهار حساسیت زایی بر فراموشی القا شده به وسیله مصرف پیش از آموزش مرفین، به علت تأثیر دوپامین بر اکتساب و به خاطر آوری اطلاعات است. در این راستا، نشان داده شده است که مصرف سیستمیک SKF 38393 یا کوپین بیرونی پس از آموزش، زمان تأخیر را افزایش می دهد. بنابراین، محتمل است که در تحقیق حاضر، اثر مهار حساسیت زایی ناشی از مرفین بر فراموشی القا شده، به وسیله یک مکانیسم دوپامینی میانجیگری شود، اگرچه، برای تعیین دقیق اثرات افزایش حساسیت به مرفین در روش یادگیری اجتنابی غیر فعال، به مطالعات بیشتری احتیاج است.

بر یادگیری و حافظه از بین بردن بر این اساس می توان دخالت گیرنده های اوپیوئیدی را در این امر محتمل دانست. همچنین مطالعه حاضر نشان داده است که افزایش حساسیت به مرفین، مانع القای فراموشی به وسیله مصرف پیش از آموزش آن می شود. علاوه بر این، عدم القای این حساسیت به وسیله پیش تیمار با نالوکسان، مانع بروز این اثر مهار می گردد. مطالعات قبلی نشان داده است که چنانچه در حیوانات آزمایشگاهی بعد از مصرف مکرر مواد مخدر و ایجاد یک دوره قطع، تزریق مجدد دارو با یک مقدار مشابه یا کمتر از آن که قبلاً تجویز شده است، صورت گیرد، در واکنش های رفتاری افزایش معنی داری می توان مشاهده کرد. قابل ذکر است که این افزایش، حساسیت رفتاری نام دارد (اسپانگل، ۱۹۹۵). در این راستا، گزارش شده است که پیش تیمار نوبتی با مرفین، باعث افزایش توانایی مرفین در القای اثرات پاداشی می شود.

بر این اساس، در ابتدا پیش بینی می شد که در حیوانات مورد مطالعه، حساسیت زایی به مرفین سبب می گردد تا القای فراموشی به وسیله مصرف پیش از آموزش مرفین، بیش از پیش افزایش یابد، در حالی که نتایج عکس این پیش بینی بود. این نتایج برای اولین بار گزارش می شود و نشان می دهد که افزایش حساسیت به مرفین که عامل مهمی در مصرف مجدد آن، بعد از یک دوره طولانی قطع است، می تواند بر نحوه عملکرد مرفین در یادگیری و حافظه اثر بگذارد. بسیاری از تحقیقات نشان می دهند که دوپامین در القای حساسیت رفتاری نقش موثری دارد (یزپورسکی و ووایت، ۱۹۹۵).



## سپاسگزاری

کردند که مؤلفان بدین وسیعی از آنان تشکر و قدردانی می‌نمایند.

کلیه هزینه‌های این تحقیق را مرکز علوم شناختی پژوهشگاه دانشگاه بنیادی در مرکز تحقیقات فیزیک نظری و ریاضیات تأمین

## منابع

- Acquas, E., & Di Chiara, G. (1992). Depression of mesolimbic dopamine transmission and sensitization to morphine during opiate abstinence. sensitizes rats to the rewarding effects of cocaine. *Journal of Neurochemistry*, *58*, 1620-1625.
- Berman, M.O. (1991). Clinical and experimental approaches to varieties of memory. *Journal of Neuroscience*, *58*, 135-150.
- Bruins Slot, L.A., & Colpaert, F.C. (1999). Recall rendered dependent on an opiate state. *Behavioral Neuroscience*, *113*, 337-344.
- Bruins Slot, L.A., & Colpaert, F.C. (1999). Opiates states of memory: Receptor mechanisms. *Journal of Neuroscience*, *19*, 10520-10529.
- Castellano, C., Pavone, F., & Puglisi-Allegra, S. (1994). Morphine and memory in DBA/2 mice: Effects of stress and of prior experience. *Behavioral Brain Research*, *11*, 3-10.
- Di Chiara, G. (1995). The role of dopamine in drug abuse viewed from the perspective of its role in motivation. *Drug Alcohol Dependence*, *38*, 95-137.
- Giros, B., Sokoloff, P., Martres, M.P., Riou, J.F., Emorine, L.J., & Schwartz, J.C. (1989). Alternative splicing directs the expression of two D2 receptor isoforms. *Nature*, *342*, 923-926.
- Horger, B.A., Shelton, K., & Schenk, S. (1990). Preexposure. *Pharmacology, Biochemistry and Behavioral*, *37*, 707-711.
- Jeziorski, M., & White, F.J. (1995). Dopamine receptor antagonists prevent expression, but not development, of morphine sensitization. *European Journal of Pharmacology*, *275*, 235-244.
- Khavandgar, S., Homayoun, H., Torkaman-Boutorabi, A., & Zarrindast, M.R. (2002). The effects of adenosine receptor agonists and antagonists on morphine state-dependent memory of passive avoidance. *Neurobiology, Learning and Memory*, *78*, 390-405.
- Nishimura, M., Shigi, Y., & Kaneto, H., (1990). State-dependent and/or direct memory retrieval by morphine in mice. *Psychopharmacology*, *100*, 27-30.
- Siegel, S. (1988). State dependent learning and morphine tolerance. *Behavioral Neuroscience*, *102*, 228-232.
- Spanagel, R. (1995). Modulation of drug-induced sensitization processes by endogenous opioid systems. *Behavioral Brain Research*, *70*, 37-49.
- Vaccarino, A.L., Olson, G.A.Q., & Kkkastin, A.J. (1998). Endogenous opiates. *Peptides*, *20*, 1527-1574.