

## اثر تزریق درون بطنی داروهای دوپامینرژیک بر حافظه وابسته به مورفین، بر اساس روش یادگیری اجتنابی غیرفعال

### مریم بنانج

دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات

### دکتر آمنه رضایوف

دانشکده علوم، دانشگاه تهران

### دکتر علی حائری روحانی

دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات

### دکتر محمدرضا زرین دست<sup>۱</sup>

گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه

علوم پزشکی تهران

### دکتر آریتا خلیل زاده

دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

### دکتر سهیلا فضلی طبایی

دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی تهران

**هدف:** در این آزمایش اثر داروهای دوپامینرژیک بر حافظه وابسته به وضعیت مورفین بر اساس روش یادگیری اجتنابی غیرفعال بر موش‌های سوری بررسی شده است. **روش:** در این پژوهش تجربی مورفین و سالین به صورت زیرپوستی و داروهای دوپامینرژیک به صورت داخل بطنی (مغزی) تزریق شدند و پس از آن (با استفاده از دستگاه پایین آمدن از سکو) زمان تأخیر در پایین آمدن از سکو اندازه‌گیری شد که معرف حافظه حیوان می‌باشد. **یافته‌ها:** تزریق زیرجلدی مورفین (5 mg/kg) در مرحله قبل از آموزش باعث تخریب حافظه بازخوانی شد ولی تزریق همان دوز مورفین در روز آزمون باعث حافظه (یادگیری) وابسته به وضعیت گردید. تزریق درون بطنی آگونیست گیرنده D<sub>1</sub> دوپامینی به نام SKF 38393 و تزریق آگونیست گیرنده D<sub>2</sub> دوپامینی به نام کینپیرول و آنتاگونیست D<sub>2</sub> به نام سولپیراید در مرحله قبل از آزمون باعث ایجاد آثار مشابه تزریق مورفین در مرحله قبل از آزمون و هم باعث افزایش عمل اپیوئیدها شد. از سوی دیگر تزریق درون بطنی آنتاگونیست D<sub>1</sub> به نام SCH 23390 در مرحله قبل از آزمون، باعث جلوگیری از بازگشت حافظه به وسیله مورفین شد. **نتیجه‌گیری:** به نظر می‌آید که اثر مورفین در برخی از مسیرهای حافظه از طریق رسپتورهای دوپامینی انجام می‌شود.

کلید واژه‌ها: یادگیری وابسته به حالت، یادگیری اجتنابی غیرفعال، داروهای دوپامینرژیک

### مقدمه

تخریبی دارند، به شرطی که بعد از آموزش تزریق شوند (کاستلانو<sup>۱</sup>، پاون<sup>۱۱</sup> و پاگلیسی - الگرا<sup>۱۲</sup>، ۱۹۹۴؛ ساها، و همکاران، ۱۹۹۱؛ تالی<sup>۱۳</sup>، ارانکوسکی - سافلدوال<sup>۱۴</sup>، مک کارتی<sup>۱۵</sup> و گولد، ۱۹۹۹؛ من<sup>۱۶</sup>، مک کارتی و گلد، ۱۹۹۹). این آثار

سیستم اپیوئیدی درون‌زا در مورد اکتساب حافظه و ذخیره آن دخیل می‌باشد (خاوندگار، همایون و زرین دست، ۲۰۰۳؛ راگوزینو<sup>۲</sup> و گولد<sup>۳</sup>، ۱۹۹۴؛ ساها<sup>۴</sup>، داتا<sup>۵</sup> و شارما<sup>۶</sup>، ۱۹۹۱؛ واکارینو<sup>۷</sup>، السن<sup>۸</sup>، السن و کاستین<sup>۹</sup>، ۱۹۹۸). آگونیست‌های گیرنده اپیوئیدی در یک مسیر وابسته به دوز و زمان، بر حافظه اثر

2- Ragozzino

4- Saha

6- Sharma

8- Olson Ga

10- Castellano

12- Puglisi- Allegra

14- Arankowsky-Safldoval

16- Men

3- Gold

5- Datta

7- Vaccarino

9- Kastin

11 - Pavone

13 - Tally

15 - McCarty

۱ - نشانی تماس: تهران، دانشگاه تهران، دانشکده پزشکی، گروه فارماکولوژی.

E-mail: Zarinmr@ams.ac.ir



می‌باشد. همچنین نشان داده شده است که دوزهای کم آپومورفین قادر به تولید رفتار ترک می‌باشند، در صورتی که دوزهای بالاتر آن این رفتار را در جوندگان کاهش می‌دهد (الکادی<sup>۲۶</sup> و شریف<sup>۲۷</sup>، ۱۹۹۸).

ضمناً مشخص شده است که علایم رفتاری ایجاد شده به وسیله ترک مورفین بسیار شبیه به همان علایمی است که به وسیله فعال شدن گیرنده‌های D<sub>2</sub> دوپامینی ایجاد می‌شود (دروهان<sup>۲۸</sup>، والترز<sup>۲۹</sup> و استون - جونز<sup>۳۰</sup>، ۲۰۰۰). به هر حال، به نظر می‌آید که گیرنده‌های D<sub>1</sub> و D<sub>2</sub> در آمیگدال مرکزی ممکن است در ایجاد و بیان ترجیح مکانی القا شده به وسیله مورفین دخالت داشته باشند (راگوزینو و گولد، ۱۹۹۴).

در این پژوهش آثار تزریق درون بطنی داروهای دوپامینرژیک بر یادگیری وابسته به مورفین در موش‌های سوری مطالعه شده است.

## روش

این مطالعه تجربی، در آزمایشگاه فارماکولوژی روی موش‌های سوری از جنس نر و از نژاد NMRI در محدوده وزنی ۲۲-۳۰ انجام شد.

موش‌ها در قفس‌های مخصوص و در شرایط حرارت محیطی (۲۲±۲ درجه سانتی‌گراد) و در دوره نوردهی ۱۲ ساعته نگهداری می‌شدند. به غیر از زمان آزمایش، در تمام اوقات آب و غذای کافی در اختیار داشتند. در هر قفس ۱۰ حیوان نگهداری می‌شد و هر حیوان نیز فقط یک بار مورد استفاده قرار می‌گرفت و پس از آزمون حذف می‌گردید.

تخریبی به وسیله آنتاگونیست گیرنده‌های اپیوئیدی مانند نالوکسان<sup>۱</sup> جبران می‌شود که این مسئله بر دخالت گیرنده‌های اپیوئیدی در یادگیری وابسته به وضعیت مورفین<sup>۲</sup> (STD) دخالت دارد (بیتی<sup>۳</sup>، ۱۹۸۳؛ ساها و همکاران، ۱۹۹۱؛ کلاستانو و همکاران، ۱۹۹۴).

یادگیری وابسته به وضعیت (STD) رفتاری است که در حضور یک دارو ایجاد یا آموزش داده می‌شود. در طی ۳۰ سال گذشته، این نوع یادگیری در مورد تعداد زیادی از داروها از جمله محرک‌های دستگاه عصبی مرکزی، آرامش‌بخش‌ها، اپیوئیدها و داروهای توهم‌زا و در گونه‌های مختلف حیوانی و حتی انسان گزارش شده است. برای مثال، مورفین باعث ایجاد این نوع یادگیری می‌شود و به نظر می‌آید که گیرنده‌های μ مورفینی در این نوع یادگیری دخالت دارند. به طوری که نالوکسان که یک آنتاگونیست گیرنده μ مورفینی است، اثر یادگیری وابسته به وضعیت مورفینی را از بین می‌برد و نالتریدول<sup>۴</sup> (آنتاگونیست گیرنده K یا δ) چنین اثری ندارد (براینزسولت<sup>۵</sup> و کولپارت<sup>۶</sup>، ۱۹۹۹؛ شولز<sup>۷</sup>، سسینیک<sup>۸</sup>، آگو<sup>۹</sup>، هایداریو<sup>۱۰</sup> و آهیسار<sup>۱۱</sup>، ۲۰۰۰).

دوپامین در امر حافظه و شکل‌پذیری سیناپسی نوروترانسمیتر مهمی می‌باشد (جی<sup>۱۲</sup>، ۲۰۰۳). شواهد فارماکولوژیکی پیشنهاد می‌کند که دوپامین نقش مهمی در یادگیری و حافظه دارد. به هر حال هنوز کاملاً مشخص نشده است که آیا تحریک محل‌های گیرنده دوپامینی باعث تسهیل یا تخریب یادگیری و حافظه می‌شود؟ (گریس<sup>۱۳</sup> و ماتیز<sup>۱۴</sup>، ۱۹۸۱؛ ایچی هارا<sup>۱۵</sup>، نابشیما<sup>۱۶</sup> و کامیاما<sup>۱۷</sup>، ۱۹۹۸؛ پاکارد<sup>۱۸</sup> و وایت<sup>۱۹</sup>، ۱۹۸۹؛ کوارترمین<sup>۲۰</sup>، جاج<sup>۲۱</sup> و لئو<sup>۲۲</sup>، ۱۹۹۸؛ سارا<sup>۲۳</sup>، ۱۹۸۶). نتایج متفاوت می‌تواند بر تفاوت زیرگروه‌های گیرنده دوپامینی و یا تفاوت روش‌های مورد استفاده در آزمایش دلالت داشته باشد.

مشخص شده است که بین سیستم‌های دوپامینرژیک و اپیوئیدرژیک ارتباط نزدیکی وجود دارد. چندین اثر مورفین مانند حرکت<sup>۲۴</sup> (زرین‌دست و زررقی، ۱۹۹۲) و تغییر در حرارت (زرین‌دست، حاجیان حیدری و حسینی‌نیا، ۱۹۹۲) ممکن است از طریق سیستم دوپامینرژیک میانجی‌گری شود. وانگهی مورفین باعث مهار خمیازه کشیدن القا شده به وسیله تحریک گیرنده D<sub>2</sub> می‌شود. سیستم دوپامینرژیک در ظهور علایم ترک<sup>۲۵</sup> مورفینی دخیل

1- naloxon	2 - State Dependent (STD)
3- Beatty	4 - naltridole
5- Brains solt	6 - Colpaert
7- Shulz	8 - Sosnik
9- Ego	10 - Haidarliu
11- Ahissar	12 - Jay
13- Grecksch	14 - Matties
15- Ichihara	16 - Nabeshima
17- Kameyama	18- Pakard
19- White	20 - Quartermain
21- Judge	22- Leo
23- Sara	24- locomotion
25- withdrawal	26 - El- Kadi
27- Sharif	28- Druhan
29- Walters	30 - Aston - Jones



(قبل از پایین آمدن) ثبت می‌شد. اگر موش بیش از ۲۰ ثانیه روی سکو می‌ماند، آن موش از آزمایش حذف می‌گردید. به محض اینکه حیوان از مکعب چوبی پایین می‌آمد و چهار پای موش روی میله‌های فولادی قرار می‌گرفت، با روشن کردن دستگاه استیمولاتور به مدت ۱۵ ثانیه تحریک الکتریکی به پاهای موش وارد می‌شد. پس از آن موش از محیط خارج و به قفس مربوطه منتقل می‌گردید.

آزمون حافظه، ۲۴ ساعت بعد از جلسه آموزش انجام می‌شد؛ به این ترتیب که موش‌ها به صورت جداگانه و به ترتیب روی سکوی دستگاه قرار داده می‌شدند. مدت زمانی که موش‌ها روی سکو می‌مانند به عنوان زمان تأخیر<sup>۶</sup> در نظر گرفته می‌شد. در این مرحله هیچ‌گونه شوک الکتریکی به حیوان وارد نمی‌شد.

حداکثر زمان برای توقف موش روی سکو یا زمان سقف<sup>۷</sup> ۳۰۰ ثانیه بود. برای هر موشی که روی میله‌ها یا سکو پرش‌های مکرر انجام می‌داد، زمان سقف ۳۰۰ ثانیه در نظر گرفته می‌شد. ساعت انجام تمام آزمایش‌ها بین ۸ صبح تا ۲ بعد از ظهر بود.

داروهایی که در این کار مورد استفاده قرار گرفتند، عبارت بودند از:

مورفین سولفات (Temad - Tehran - Iran), SKF38393, SCH23390 و سولپیراید (Sigma, St Louis, CA, USA).

تمامی داروها در سالیان نرمال (۰/۹ درصد) حل شدند، به استثنای سولپیراید که ابتدا یک قطره اسید استیک غلیظ به آن اضافه می‌شد تا بهتر در سالیان حل شود.

مورفین به صورت زیرجلدی و داروهای دیگر به صورت داخل بطنی در مغز تزریق شدند. در روش تجویز مرکزی (تزریق داخل بطن مغز)، داروها با حجم حداکثر پنج میکرولیتر به وسیله سرنگ هامیلتون تزریق گردیدند.

در هر گروه از ۱۰ حیوان استفاده شد. در این سری آزمایش‌ها، مورفین به صورت زیرجلدی (۳۰ دقیقه قبل از آموزش یا آزمون

برای تزریق مرکزی داروها، کانولی فولادی به شماره ۲۳ گیج<sup>۱</sup> در بطن جانبی حیوان قرار داده شد. ابتدا هر موش به وسیله تزریق داخل صفاقی کتامین<sup>۲</sup> (۱۰۰ mg/kg) و زایلازین<sup>۳</sup> (۵ mg/kg) بیهوش و سپس سرش داخل دستگاه استرنوتاکس طوری ثابت گردید که سطح فرونتال مجسمه با سطح فوقانی میز دستگاه موازی باشد. بعد کانولی فولادی با شماره ۲۳ گیج در بطن راست حیوان قرار گرفت (با مختصات ۰/۹ میلی‌متر به سمت عقب از برگما و ۱/۴ میلی‌متر به سمت راست از خط وسط و ۲ میلی‌متر به عقب از سطح سخت‌شامه یا ۳ میلی‌متر از سطح مجسمه). برای ثابت ماندن کانول داخل بطن از اکریل دندانپزشکی استفاده شد.

تزریق داخل مغزی با یک سرنگ شماره ۳۰ دندانپزشکی به کمک سرنگ هامیلتون و رابط پلی‌اتیلن ۱۰ با حجم ۵ میکروانجام شد. برای ارزیابی صحت عملیات و درستی مختصات محل تزریق و جراحی همان حجم محلول ۱ درصد آبی متیلن و باز کردن مجسمه و درآوردن مغز و ثابت کردن آن در محلول فرمالین ۱۰ درصد و ارزیابی و بررسی توزیع رنگ در فضای بطن‌های مغزی به کار گرفته شد.

روش این آزمایش یادگیری اجتنابی غیرفعال بر اساس پایین آمدن از سکو<sup>۴</sup> بود، به این ترتیب که در این روش تأخیر در پایین آمدن از سکو اندازه‌گیری می‌شود و به عنوان معیاری برای مطالعه حافظه و یادگیری در موش سوری به کار می‌رود (کامیاما، نابشیما و کوزاوا<sup>۵</sup>، ۱۹۸۶). آزمایش‌های رفتاری حیوانات پنج تا هفت روز بعد از جراحی انجام شد.

دستگاه سنجش حافظه شامل یک جعبه چوبی به ابعاد ۳۰×۳۰×۴۰ سانتی‌متر است. کف دستگاه دارای ۲۹ میله فولادی به قطر ۰/۳ cm می‌باشد که به فاصله ۱ cm از یکدیگر تعبیه شده است. همچنین یک سکوی مکعبی چوبی به ابعاد ۴×۴×۴ سانتی‌متر در قسمت میانی کف دستگاه روی میله‌های فلزی قرار گرفته است. هنگامی که دستگاه روشن است یک جریان الکتریکی با مشخصات یک هرتز، ۰/۵ ثانیه و ۴۵ ولت مستقیم در میله‌های فلزی برقرار می‌شود.

در جلسه آموزش، هر موش با احتیاط روی سکوی دستگاه ارزیابی حافظه قرار می‌گرفت و مدت زمان توقف موش روی سکو

1- gauge  
2 - ketamin  
3- xaylazin  
4- step down passive avoidance learning  
5- Kozawa  
6- latency  
7 - cut off



23390 (۰/۵ و ۰/۷۵ و ۱  $\mu\text{g}/\text{mouse}$ ) را به صورت درون بطنی دریافت کرد و بعد آزمون اجرا شد.

گروه دوم، در روز آموزش ابتدا مورفین (۵ mg/kg) به صورت زیر جلدی دریافت کرد و ۲۴ ساعت بعد (روز آزمون) ابتدا مورفین (۵ mg/kg) به صورت زیر جلدی و بعد دوزهای مختلف SCH 23390 (۰/۵، ۰/۷۵ و ۱  $\mu\text{g}/\text{mouse}$ ) را به صورت درون بطنی دریافت کرد و سپس آزمون اجرا شد.

#### آزمایش چهارم

در این آزمایش گروه کنترل در روز آموزش سالیین به صورت زیر جلدی و در روز آزمون نیز ابتدا سالیین ۱۰ ml/kg به صورت زیر جلدی و بعد دوزهای مختلف کینپیروول (۰/۳، ۱ و ۳  $\mu\text{g}/\text{mouse}$ ) را به صورت درون بطنی دریافت کرد.

به گروه دوم ۳۰ دقیقه بعد از اینکه مورفین (۵ mg/kg) را به صورت زیر جلدی دریافت کرد، آموزش داده شد و دو ساعت بعد (روز آزمون) ابتدا سالیین (۱۰ ml/kg) به صورت زیر جلدی و بعد دوزهای مختلف کینپیروول (۰/۳، ۱ و ۳  $\mu\text{g}/\text{mouse}$ ) به صورت درون بطنی تزریق گردید.

گروه سوم در روز آموزش ابتدا مورفین (۵ mg/kg) به صورت زیر جلدی دریافت کرد و ۳۰ دقیقه بعد به آنها آموزش داده شد و ۲۴ ساعت بعد (روز آزمون) ابتدا مورفین (۱ mg/kg) به صورت زیر جلدی دریافت کرد و بعد دوزهای مختلف کینپیروول (۰/۳، ۱ و ۳  $\mu\text{g}/\text{mouse}$ ) به صورت درون بطنی تزریق گردید.

#### آزمایش پنجم

در این آزمایش نیز گروه کنترل در روز آموزش ابتدا سالیین (۱۰ ml/kg) را به صورت زیر جلدی دریافت کرد و بعد آموزش داده شد. ۲۴ ساعت بعد (روز آزمون) ابتدا سالیین به صورت زیر جلدی به این گروه تزریق شد و بعد دوزهای مختلف سولپیراید (۰/۲، ۱ و ۵  $\mu\text{g}/\text{mouse}$ ) به صورت درون بطنی به این گروه تزریق و بعد آزمون اجرا گردید.

حافظه) و با دو دوز  $M_1$  و  $M_5$  تزریق شد. داروهای دوپامینرژیک نیز به صورت درون بطنی و ۱۵ دقیقه قبل از آزمون تزریق شدند.

#### آزمایش اول

در این آزمایش، گروه کنترل قبل از آموزش و جلسه آزمون، سالیین (۱۰ ml/kg) دریافت کرد و سه گروه دیگر، مورفین را به صورت زیر جلدی و با دوز ۵ mg/kg دریافت کردند و ۳۰ دقیقه بعد، تحت آموزش<sup>۱</sup> قرار گرفتند و ۲۴ ساعت بعد، قبل از آزمون، سالیین یا مورفین (۱ یا ۵ mg/kg) به صوت زیر جلدی دریافت کردند.

#### آزمایش دوم

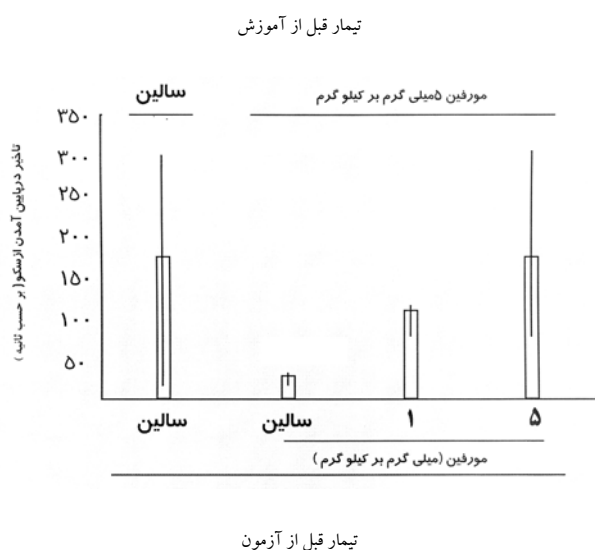
در این آزمایش، ابتدا گروه کنترل قبل از آموزش به صورت زیر جلدی سالیین دریافت کرد و سپس قبل از آزمون به صورت زیر جلدی سالیین و بعد از آن از طریق درون بطنی دوزهای مختلف SKF 38393 (۰/۵، ۰/۷۵ و ۱  $\mu\text{g}/\text{mouse}$ ) (آگونیست گیرنده  $D_1$ ) را دریافت نمود.

گروه دوم، در روز آموزش ابتدا مورفین (۵ mg/kg) به صورت زیر جلدی دریافت کرد و ۳۰ دقیقه بعد تحت آموزش قرار گرفت. ۲۴ ساعت بعد (روز آزمون) سالیین به صورت زیر جلدی و دوزهای مختلف SKF 38393 (۰/۵، ۰/۷۵ و ۱  $\mu\text{g}/\text{mouse}$ ) به صورت درون بطنی تزریق و بعد آزمون اجرا شد.

گروه سوم در روز آموزش، ابتدا مورفین ۵ mg/kg به صورت زیر جلدی دریافت کرد و بعد از ۳۰ دقیقه آموزش داده شد و ۲۴ ساعت بعد (در روز آزمون) ابتدا مورفین (۱ mg/kg) به صورت زیر جلدی و بعد دوزهای مختلف SKF 38393 (۰/۵، ۰/۷۵ و ۱  $\mu\text{g}/\text{mouse}$ ) به صورت درون بطنی دریافت کرد و سپس آزمون اجرا گردید.

#### آزمایش سوم

در این آزمایش گروه کنترل، قبل از آموزش، سالیین را به صورت زیر جلدی دریافت کرد و در روز آزمون نیز ابتدا سالیین ۱۰ ml/kg را به صورت زیر جلدی و بعد دوزهای مختلف SCH



شکل ۱- اثر تزریق مورفین همراه با سالین و دوزهای مختلف مورفین

### آثار تزریق آگونیست‌های گیرنده $D_1$ به صورت پیش از آزمون بر موش‌هایی که در روز آموزش سالین یا مورفین دریافت کرده بودند.

حیواناتی که در روز آموزش ابتدا سالین و سپس در روز آزمون سه دوز متفاوت از SKF 38393 دریافت کردند، در مقایسه با گروه کنترل سالین - سالین در آزمون حافظه (تأخیر در پایین آمدن از سکو) هیچ تفاوت معنی‌داری نداشتند. حافظه حیواناتی که مورفین پیش از آموزش (۵ mg/kg) دریافت کرده بودند، تخریب شده بود ولی تزریق دوزهای مختلف SKF شامل (۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ μg/mouse) به صورت درون بطنی در روز آزمون باعث بهبود حافظه به طور معنی‌دار شد. [kruskal - wallis, nonparametric ANOVA, H(3) = 22.17,  $p < 0.001$ ].

از سوی دیگر، تزریق SKF با دوزهای متفاوت (۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ μg/mouse) به صورت درون بطنی در روز آزمون باعث بهبود حافظه به طور معنی‌دار شد [kruskal-wallis, nonparametric ANOVA, H(3) = 22.17,  $p < 0.001$ ].

گروه دوم، در روز آموزش ابتدا مورفین (۵ mg/kg) به صورت زیر جلدی دریافت کرد و بعد از ۳۰ دقیقه آموزش داده شد. همین گروه ۲۴ ساعت بعد (روز آزمون) ابتدا سالین را به صورت زیر جلدی و بعد دوزهای مختلف سولپیراید (۰/۲، ۱ و ۵ μg/mouse) را به صورت درون بطنی دریافت کرد و بعد آزمون اجرا شد. گروه سوم، در روز آموزش ابتدا مورفین (۵ mg/kg) را به صورت زیر جلدی دریافت کرد و ۲۴ ساعت بعد (روز آزمون) ابتدا مورفین (۱ mg/kg) به صورت زیر جلدی و بعد در روزهای مختلف سولپیراید (۰/۲، ۱ و ۵ μg/mouse) را به صورت درون بطنی دریافت کرد و سپس آزمون اجرا شد.

### تحلیل آماری

در گروه‌های مختلف، زمان توقف روی سکو به صورت میانه<sup>۱</sup> و کوارتایل یادداشت شد و سپس داده‌ها به وسیله آنالیز آماری کروسکال-والیس<sup>۲</sup> و به دنبال آن برای بررسی جفت گروه‌ها به وسیله آنالیز من-ویتنی<sup>۳</sup> مقایسه شدند. پس از آن به تعداد دفعات استفاده از آزمون برای مقایسه جفت گروه‌ها از ضریب تصحیح هولمز بونفرونی<sup>۴</sup> استفاده گردید. در تمام آزمایش‌ها ضریب  $p < 0.05$  معیار معنی‌دار بودن مقایسه بین گروه‌ها بود.

### یافته‌ها

#### اثر مورفین بر حافظه بازخوانی<sup>۵</sup> (حافظه وابسته به وضعیت مورفین)

همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده شده است، در گروهی که مورفین (۵ mg/kg) را پیش از آزمون و سالین را در روز آزمون سالین دریافت کرده، در مقایسه با گروهی که در روز آموزش آزمون سالین دریافت کرده، حافظه تخریب شده بود.

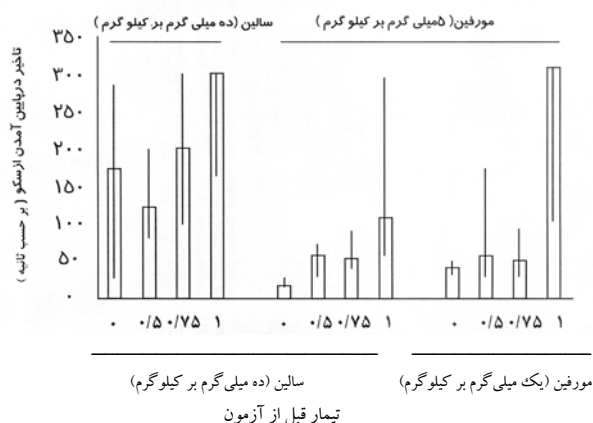
در گروه دوم که در روز آموزش به صورت پیش از آموزش مورفین (۵ mg/kg) و در روز آزمون نیز مورفین (۵ mg/kg) دریافت کرده بودند، حافظه (حافظه وابسته به وضعیت مورفین) افزایش یافته بود. [kruskal - wallis none parametric ANOVA H(3) = 17.59,  $p < 0.001$ ].

1- median  
3- Mann Whitney - u  
5- retrieval

2 - Kruskal - wallis  
4 - Holms Bonferoni

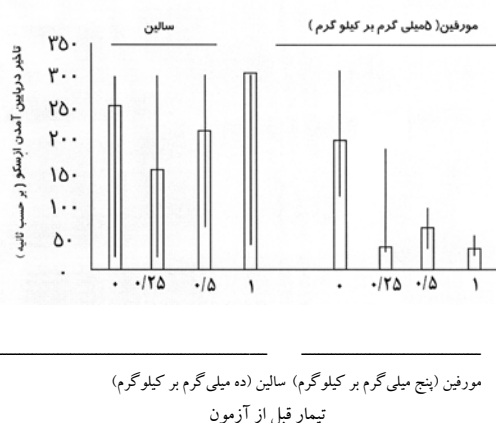


تیمار قبل از آموزش



شکل ۲- اثر تزریق دوزهای مختلف SKF 38393 همراه با مورفین یا سالین

تیمار قبل از آموزش



مورفین (پنج میلی گرم بر کیلوگرم) سالین (ده میلی گرم بر کیلوگرم) تیمار قبل از آزمون

شکل ۳- اثر تزریق دوزهای مختلف SCH 23390 همراه با مورفین یا سالین

### آثار تزریق آگونیست گیرنده $D_2$ به صورت درون بطنی بر موش‌هایی که در روز آموزش سالین یا مورفین دریافت کرده بودند.

موش‌هایی که در روز آموزش سالین و سپس در روز آزمون سه دوز مختلف آگونیست گیرنده  $D_2$  به نام کینپیرول دریافت کردند و سپس آزمایش شدند، در مقایسه با گروه سالین- سالین (گروه کنترل) در آزمون حافظه (تأخیر در پایین آمدن از سکو) هیچ تغییر معنی‌داری نشان ندادند.

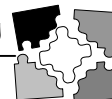
در موش‌هایی که در روز آموزش ابتدا مورفین (5 mg/kg) به صورت پیش از آموزش دریافت کردند، حافظه تخریب شد و در روز آزمون با تزریق درون بطنی کینپیرول با سه دوز مشخص (0.2، 1 و 3  $\mu\text{g}/\text{mouse}$ ) حافظه بازخوانی آشکارا بهبود یافت [Kruskal- wallis, nonparametric ANOVA,  $H(3)=23.04$ ,  $p<0.001$ ].

همچنین تزریق قبل از آزمون کینپیرول با سه دوز مشخص (0.2، 1 و 3  $\mu\text{g}/\text{mouse}$ ) در موش‌ها آثار تزریق قبل از آزمون مورفین (1 mg/kg) را بر حافظه بازخوانی تقلید کرد و باعث بهبود حافظه (بازگشت حافظه) شد [Kruskal- wallis, nonparametric ANOVA,  $H(3)=19.05$ ,  $p<0.001$ ]. (شکل ۴).

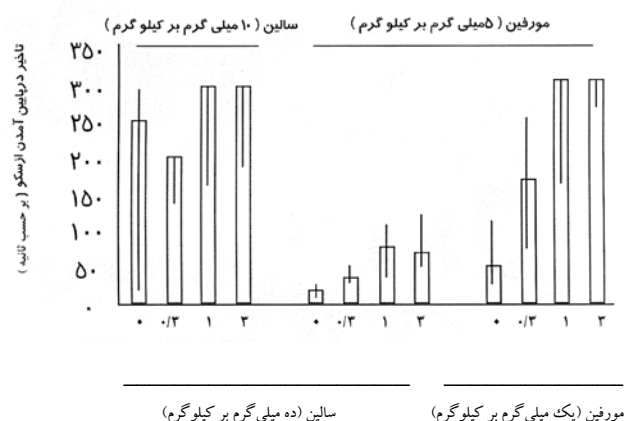
تزریق SKF با دوزهای متفاوت (0.5، 0.75، 1  $\mu\text{g}/\text{mouse}$ ) به صورت درون بطنی در روز آزمون همراه با تزریق مورفین (1 mg/kg) به صورت زیرجلدی در روز آزمون باعث بهبود حافظه شد که تقریباً آثار تزریق مورفین (5 mg/kg) را در روز آزمون تقلید می‌کرد [Kruskal- wallis, nonparametric ANOVA,  $H(3)=16.09$ ,  $p<0.001$ ]. (شکل ۲).

### آثار تزریق درون بطنی آنتاگونیست گیرنده $D_1$ در موش‌هایی که در روز آموزش سالین یا مورفین دریافت کرده بودند.

حیواناتی که در روز آموزش سالین و در روز آزمون دوزهای مختلف آنتاگونیست  $D_1$  را به صورت درون بطنی دریافت کرده بودند، در مقایسه با گروه کنترل سالین- سالین در آزمون حافظه (تأخیر در پایین آمدن از سکو) اختلاف معنی‌داری نداشتند. ولی در گروهی که در روز آموزش مورفین (5 mg/kg) دریافت کردند، حافظه تخریب و با تجویز همان دوز از مورفین در روز آزمون حافظه برگشت داده شد. در این حیوانات تزریق درون بطنی دوزهای مختلف SCH 23390 (0.25، 1 و 5  $\mu\text{g}/\text{mouse}$ )، باعث کاهش بهبود (برگشت) حافظه به وسیله تزریق مورفین (5 mg/kg) به صورت زیرجلدی در روز آزمون شد [Kruskal - wallis, nonparametric ANOVA,  $H(3)=14.67$ ,  $p<0.01$ ]. (شکل ۳).



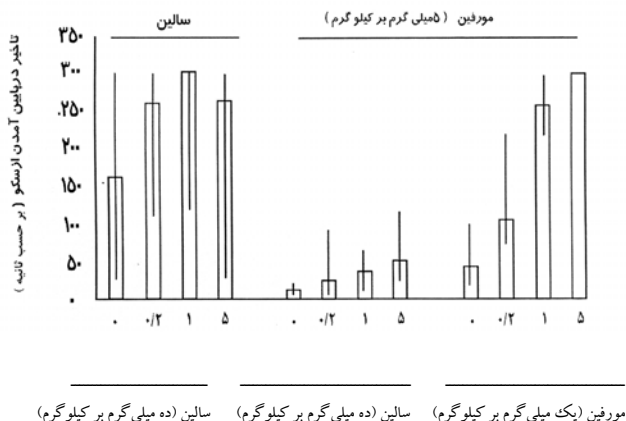
تیمار قبل از آموزش



تیمار قبل از آزمون

شکل ۴- اثر تزریق دوزهای مختلف کینپرول همراه با مورفین یا سالیان

تیمار قبل از آموزش



تیمار قبل از آزمون

شکل ۵- اثر تزریق دوزهای مختلف سولپیراید همراه با مورفین یا سالیان

### آثار تزریق قبل از آزمایش آنتاگونیست گیرنده $D_2$ بر موش‌هایی که در روز آموزش سالیان یا مورفین دریافت کرده بودند.

در موش‌هایی که به صورت پیش از آزمون سالیان و سپس در روز آزمایش سه دوز مختلف آنتاگونیست  $D_2$  (0.2، 1 و 5  $\mu\text{g}/\text{mouse}$ ) دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه کنترل سالیان - سالیان، در آزمون حافظه (تأخیر در پایین آمدن از سکو) هیچ تغییر معنی داری نداشتند.

در موش‌هایی که ابتدا به صورت پیش از آموزش مورفین (5 mg/kg) دریافت کرده بودند و حافظه قابل برگشت تخریب شده بود و سپس در روز آزمایش سولپیراید با سه دوز مشخص (0.2، 1 و 5  $\mu\text{g}/\text{mouse}$ ) به صورت درون بطنی گرفته بودند، حافظه بازخوانی بهبود یافت [Kruskal- wallis, nonparametric ANOVA,  $H(3)=12.95, p<0.01$ ].

تزریق پیش از آزمون سولپیراید با سه دوز (0.2، 1 و 5  $\mu\text{g}/\text{mouse}$ ) موجب افزایش (بهبود) حافظه شد و آثار مورفین [Kruskal- wallis, nonparametric ANOVA,  $H(3)=24.24, p<0.01$  (شکل ۵)].

### بحث

آزمایش‌ها حاکی از آن است که تزریق مورفین پیش از آموزش در روز اول، یعنی روز آموزش باعث تخریب حافظه بازخوانی می‌شود. در حیواناتی که در روز آموزش مورفین (5 mg/kg) و در روز آزمایش مجدداً همان دوز مورفین دریافت کردند، حافظه دوباره برگشت داده می‌شود. در واقع از تخریب حافظه که توسط مورفین (5 mg/kg) در روز آموزش القا شده بود با تزریق همان دوز مورفین در روز آزمون ممانعت می‌شود. این پدیده یادگیری وابسته به وضعیت مورفین (STD) نام‌گذاری می‌شود.

داروهای زیادی شناخته شده‌اند که باعث بهبود و برگشت حافظه تخریب شده به وسیله مورفین می‌شوند. در حقیقت این داروها نیز دارای اثر یادگیری وابسته به وضعیت مورفین (STD) می‌باشند از جمله این مواد آدنوزین (خاوندگار، همایون، ترکمن بوتراپی و زرین دست، ۲۰۰۲)، نیتریک اکساید (خاوندگار و همکاران، ۲۰۰۳)، داروهای  $\alpha$  آدرنوسپتور (همان‌جا)، تنظیم کننده‌های کانال  $K^+$  ATP، گلوکز و انسولین (جعفری، زرین دست و جهانگیری، ۲۰۰۴)، اتانول (وکیلی، طیبی، جعفری، زرین دست و جهانگیری، ۲۰۰۴) و هیستامین (زرین دست، خلیل زاده، رضایت،



میانجی گری می‌شود.

از سوی دیگر، تزریق آنتاگونیست گیرنده  $D_2$  به صورت درون بطنی، در شرایطی که مورفین در روز آموزش باعث فراموشی و کم شدن حافظه شده است، باعث برگشت حافظه می‌شود. سولپیراید نیز باعث تقویت پاسخ دوزهای کمتر مورفین ( $1 \text{ mg/kg}$ ) به صورت قبل از آزمون می‌شود. قبلاً پیشنهاد شده بود که تزریق قبل از آزمون یا قبل از آموزش سولپیراید باعث تخریب حافظه به واسطه عمل در سطح پیش‌سیناپسی<sup>۸</sup> گیرنده‌های دوپامینی می‌شود (هال<sup>۹</sup> و کراو<sup>۱۰</sup>، ۲۰۰۳). سولپیراید ممکن است گیرنده‌های  $D_2$  را نیز که به صورت پس‌سیناپسی<sup>۱۱</sup> عمل می‌کنند بلوک کند اما بر اساس تجربیات حاضر افزایش آزادسازی دوپامین بر گیرنده‌های  $D_1$  که به صورت پس‌سیناپسی در پدیده STD مورفینی دخالت دارند اثر کرده، حافظه را افزایش می‌دهد.

مطالعات گذشته این نظریه را مطرح می‌کرد که گیرنده‌های  $D_2$  در سطح پیش‌سیناپسی یا پس‌سیناپسی باعث آثار متضادی می‌شوند. مثلاً، تزریق عوامل مؤثر بر گیرنده  $D_2$  به صورت پیش از آزمون باعث تغییر حافظه بازخوانی به طور متفاوتی می‌شود. همچنین دوزهای کم یا زیاد یک آگونیست گیرنده  $D_2$  به نام بروموکرپتین<sup>۱۲</sup> در موش‌ها به ترتیب باعث افزایش یا تخریب حافظه (جکسون<sup>۱۳</sup>، راس<sup>۱۴</sup> و هاشیزوم<sup>۱۵</sup>، ۱۹۹۸؛ کبابین<sup>۱۶</sup> و کالن<sup>۱۷</sup>، ۱۹۸۹)، در حالی که دوز کم سولپیراید ( $20 \text{ mg/kg}$ ) باعث عکس شدن افزایش حافظه حاصل از دوز کم بروموکرپتین می‌شود. دوز بالای سولپیراید نیز باعث برگشت و بهبود حافظه تخریب شده به وسیله دوزهای بالاتر بروموکرپتین می‌گردد. استفاده از آگونیست گیرنده  $D_2$  نیز آثار مشابهی بر جای گذاشت (آرنت<sup>۱۸</sup>، هیتل<sup>۱۹</sup> و میر<sup>۲۰</sup>، ۱۹۹۸). دوزهای کم و زیاد آگونیست گیرنده  $D_2$  (بروموکرپتین) به ترتیب در سطح پیش‌سیناپسی یا پس‌سیناپسی

صاحبقرانی و جهانگیری، ۲۰۰۵) می‌باشد. در این تحقیق ابتدا آثار تزریق درون بطنی داروهای دوپامینرژیک روی STD حاصل از مورفین در موش‌ها بررسی گردید.

تاکنون در مورد آثار دوپامین بر حافظه یا یادگیری شواهد متناقضی گزارش شده است. بر اساس گزارش برخی محققان، رسپتورهای  $D_1$  و  $D_2$  دارای آثار مختلفی بر یادگیری و حافظه هستند (ایچی هارا و همکاران، ۱۹۹۸؛ ایزکویردو<sup>۱</sup> و همکاران، ۱۹۹۸؛ پاکارد و وایت، ۱۹۸۹؛ ویل کرسون<sup>۲</sup> و لوین<sup>۳</sup>، ۱۹۹۹). به نظر برخی دیگر، آگونیست‌های گیرنده  $D_1$  باعث تخریب قدرت شناختی موش صحرایی (رت) می‌شوند و بر یادگیری اثری ندارند (هرسی<sup>۴</sup>، راو<sup>۵</sup>، گادریو<sup>۶</sup> و کوئیریون<sup>۷</sup>، ۱۹۹۵؛ ایچی هارا و همکاران، ۱۹۹۸).

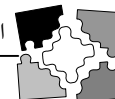
در آزمایش یادگیری اجتنابی فعال، تحریک گیرنده‌های  $D_1$  باعث افزایش حافظه می‌شود. این اثر به وسیله آنتاگونیست  $D_1$  ممانعت می‌شود که نشان دهنده دخالت گیرنده‌های  $D_1$  دوپامینی حداقل در یکی از مراحل ایجاد یادگیری و ادراک می‌باشد (الکادی و شریف، ۱۹۹۸؛ زرین دست و همکاران، ۱۹۹۲).

در این مطالعه، تزریق درون بطنی دوزهای مختلف SKF 38393 و کینیپرول به صورت پیش از آزمون آثار تزریق مورفین ( $5 \text{ mg/kg}$ ) را در برگشت و بهبود حافظه تقلید کرد و نتایج آن مشابه آثار تزریق مورفین به صورت پیش از آزمون بود. بنابراین، این داروها وقتی همراه با دوز کمتر مورفین ( $5 \text{ mg/kg}$ ) در روز آزمایش تزریق می‌شوند، با همان قدرتی که مورفین ( $5 \text{ mg/kg}$ ) بر حافظه اثر می‌کند، اثر می‌کنند و باعث القای حافظه بازخوانی می‌شوند. این نتایج دلالت بر این دارد که تحریک گیرنده‌های دوپامینی در پدیده STD حاصل از مورفین دخالت دارد. وقتی SCH 23390 که یک آنتاگونیست گیرنده  $D_1$  می‌باشد، همراه با مورفین ( $5 \text{ mg/kg}$ ) در روز آزمون تزریق می‌شود، از برگشت حافظه به وسیله مورفین ممانعت می‌کند. بنابراین نتیجه گیری می‌شود گیرنده‌های  $D_1$  در این مراحل دخالت دارند و حداقل بخشی از مراحل برگشت حافظه با مورفین در روز آزمون (در حقیقت پدیده STD حاصل از مورفین) به وسیله این گیرنده‌ها

1- Izquierdo  
3- Levin  
5- Rowe  
7- Quirion  
9 - Hale  
11 - postsynaptic  
13- Jackson  
15- Hashizume  
17- Calne  
19- Hyttel

2 - Wilkerson  
4 - Hersi  
6 - Gaudreau  
8 - pre synaptic  
10- Crowe  
12- Bromocriptin  
14 - Ross  
16 - Kebabian  
18- Arnt  
20- Meier





جناب آقای دکتر احمد مجد قدردانی شود. همچنین از کمک‌های جناب آقای دکتر صاحبقرانی سپاسگزاریم.

گیرنده‌های دوپامینی عمل می‌کند که پیشنهاد می‌شود فعال شدن گیرنده‌های پیش‌سیناپسی و پس‌سیناپسی D2 دوپامینی با مکانیسم‌های متفاوتی عمل می‌کنند.

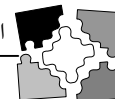
دریافت مقاله: ۱۳۸۴/۷/۲۸؛ پذیرش مقاله: ۱۳۸۴/۹/۱۷

## سپاسگزاری

در اینجا لازم است از حمایت و مساعدت بی‌دریغ استاد گرامی

## منابع

- Arnt, J., Hyttel, J., & Meier, E. (1998). Inactivation of dopamine D-1 or D-2 receptors differentially inhibits stereotypies induced by dopamine agonists in rats. *Europan Journal of Pharmacology*, 155 (1-1), 37-47.
- Beatty, W. W (1983). Opiate antagonists, morphine and spatial memory in rats. *Pharmacol, Biochemical Behavioral*, 19, 397-401.
- Brains slot, L. A., & Colpaert, F. C. (1999). Opiate states of memory: Receptor mechanisms. *Journal of Neuroscience*, 9 (23), 10520-10529.
- Castellano, C., Pavone, F., & Puglisi-Allegra, S. (1994). Morphine and memory in DBA/2 mice: Effects of stress and of prior experience. *Behavioural Brain Research*, 11, 3-10.
- Druhan, J. P., Walters, C. L., & Aston-Jones, G. (2000). Behavioral activation induced by D (2) - like receptor stimulation during opiate withdrawal. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 294 (2), 531-538.
- El- Kadi, A. O., & Sharif, S. I. (1998). The role of dopamine in the wxpression of morphine withdrawal. *General Pharmacology*, 30 (4), 499-506.
- Grecksch, O., & Matties, H. (1981). The role of dopaminergic mechanisms in the rat hippocampus for the consolidation in a brightness discrimination. *Psychopharmacology*, 75 (20), 165-168.
- Hale, M. W., Crowe, S. F. (2003). Facilitation and disruption of memory for the passive avoidance task in the day-old chick using dopamine D1 receptor compounds. *Behavioral Pharmacology*, 14 (7), 525-532.
- Hersi, A., Rowe, W., Gaudreau, P. & Quirion, R. (1995). Dopamine D1 receptor ligands modulate cognitive and hippocampal acetylcholine release in meory-impaired aged rats. *Neuroscience*, 69 (4), 1067-1074.
- Ichihara, K., Nabeshima, T., Kameyama, T. (1998). Effects of haloperidol, sulphiride and SCH 23390 on passive avoidance learning in mice. *Europan Journal of Pharmacology*, 151, 435-442.
- Izquierdo, I., Medina J. H., Izquierdo, L. A., Barros, D. M., de Souza, M. M., & Melloe Souza, T. (1998). Short - and long-term memory are differentially regulated by monoaminergic systems in the rat brain. *Neurobiology of Learning and Memory*, 69, 219-224.
- Jackson, D. M., Ross, S. B., & Hashizume, M. (1988). Dopamine-mediated behaviours produced in naive mice by bromocriptine plus SKF 38393. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 40 (30), 221-223.
- Jafari, M. R., Zarrindast, M. R., & Djahanguiri, B. (2004). Effects of different doses of glucose and insulin on morphine state- dependent memory of passive avoidance in mice. *Psychopharmacology Berlin*, 175 (4), 457-462.
- Jay, T. M. (2003). Dopamine: a potential substrate for synaptic plasticity and memory mechanisms. *Progress in Neurobiology*, 69 (6), 375-390.
- Kebabian, J. W., Calne, D. B. (1979). Multiple receptors for dopamine. *Nature*, 277, 93-96.
- 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 of Learning and Memory*, 78 (2), 390-405.
- Khavandgar, S., Homayoun, H., & Zarrindast, M. R. (2003). The effect of L-NAME and L-arginine on impairment of memory formation and state- dependent learning Induced by morphine in mice. *Psychopharmacology Berlin*, 167 (3), 291-296.
- Men, D., McCarty, R. & Gold, P. E. (1999). Enhanced release of norepinephrine in rat hippocampus during spontaneous alternation tests. *Neurobiology of Learning and Memory*, 71, 289-300.
- Pakard, M. G. & White, N. M. (1989). Memory facilitation produced by dopamine agonists: role of receptor subtypes and mnemonic requirements. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 33, 511-518.
- Quartermain, D., Judge, M. E., & Leo, P. (1988). Attenuation off orgetting by pharmacological stimulation of aminergic



- neurotransmitter systems. *Pharmacology Biochemistry & Behavior*, 30 (1), 77-81.
- Ragozzino, M. E., & Gold, P. E. (1994). Task-dependent effects of intra amygdala morphine injections attenuation by intra amygdala glucose injections. *Journal of Neuroscience*, 14, 7478- 7485.
- Saha, N., Datta, H., & Sharma, P. L. (1991). Effects of morphine on memory: Interactions with naloxone, propranolol and haloperidol. *Pharmacology*, 42 (1), 10-14.
- Sara, S. J. (1986). Haloperidol facilitates memory retrieval in the rat. *Psychopharmacology Berlin*, 89 (3), 307-310.
- Shulz, D. E., Sosnik, R., Ego, V., Haidarliu, S., Ahissar, E. (2000). A neuronal analogue of state- dependent learning. *Nature*, 403 (6769), 549-553.
- Talley, C. P., Arankowsky-Safldoval, G., McCarty, R., & Gold, P. E. (1999). Attention of morphine – induced behavioural changes in rodents by D, and L-glucose. *Neurobiology of Learning and Memory*, 71, 62-79.
- Vaccarino, L., Olson, G. A., Olson, R. D., & Kastin, A. J. (1998). Endogenous opiates. *Peptides*, 20, 1527-1574.
- Vakili, A., Tayebi, K., Jafari, M. R., Zarrindast, M. R., & Djahanguiri, B. (2004). Effect of ethanol on morphine state-dependent learning in the mouse: involvement of GABAergic, opioidergic and cholinergic systems. *Alcohol and Alcoholism*, 39 (5), 427-432.
- Wilkerson, A. & Levin, E. D. (1999). Ventral hippocampal dopamine D1 and D2 systems and spatial working memory in rats. *Neuroscience*, 89 (3), 743-749.
- Zarrindast, M. R., Hajian-Heydari, A., & Hoseini-Nia, T. (1992). Characterization of dopamine receptors involved in apomorphine – induced pecking in pigeons. *General Pharmacology*, 23 (3), 427-430.
- Zarrindast, M. R., Khalilzadeh, A., Rezayat, M., Shebgharani, M., & Djahanguiri, B. (2005). Influence of intracerebroventricular administration of histaminergic drugs on morphine state-dependent memory in the step-down passive avoidance test. *Pharmacology*, 74 (2), 106-12.
- Zarrindast, M. R., & Zarghi, A. (1992). Morphine stimulates locomotor activity by an indirect dopaminergic mechanism: possible D-1 and D-2 receptor involvement. *General Pharmacology*, 23 (6), 1221-1225.