



## Effect of co-administration of nitric oxide and morphine into CA3 region of hippocampus on learning and spatial memory in morphine dependent male rats

Mahshid Hoseinzadeh<sup>1</sup>, Iran Pouraboli<sup>1\*</sup>, Mehdi Abbasnejad<sup>1</sup>, Batool Pouraboli<sup>2</sup>

1. Dept. Biology, School of Sciences, Shaheed Bahonar University, Kerman, Iran

2. School of Nursing, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

Received: 12 Mar 2007

Revised: 19 Jan 2008

Accepted: 16 Feb 2008

### Abstract

**Introduction:** The effect of morphine dependency on learning and spatial memory is controversial. In this study, the effect of co-administration of nitric oxide (NO) and morphine in CA3 region of hippocampus on learning and spatial memory in morphine dependent rats was investigated.

**Methods:** After anaesthetizing of male rats, guide cannula was implanted bilaterally in CA3 region of hippocampus. After recovery period (7 days), morphine dependency was induced then animals divided to 6 groups and respectively received 1  $\mu$ l saline, L-Arginine, L-Name, morphine, L-Arginine+morphine and/or L-Name+morphine. Morphine dependency was induced by subcutaneous injections of morphine (10 mg/kg first day and 20 mg/kg for four next days). During Morris water maze test period, last dose of morphine (20 mg/kg) was injected daily to maintain morphine dependency.

**Results:** L-Name decreased learning in morphine dependent rats but it was not effective on retention of memory. Morphine did not affect learning and spatial memory. Co-administration of L-Arginine and morphine promoted the effect of L-Arginine on learning and spatial memory.

**Conclusion:** It seems that comparing to separate administration, co-administration of NO and morphine in morphine dependent rats does a better improvement in learning and spatial memory.

**Keywords:** Learning, Spatial Memory, Morphine dependency, Hippocampus, NO

\* Corresponding Author Email: pouraboli\_i@mail.uk.ac.ir  
Available online @: www.phypha.ir/ppj

## اثر تجویز توأم مورفین و نیتریک اکساید در CA3 هیپوکمپ بر یادگیری و حافظه فضائی موشهای صحرائی نر وابسته به مورفین

مهشید حسین‌زاده<sup>۱</sup>، ایران پورابولی<sup>۱\*</sup>، مهدی عباس‌نژاد<sup>۱</sup>، بتول پورابولی<sup>۲</sup>

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر، کرمان

۲. دانشکده پرستاری، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان

دریافت: اسفند ۸۵ بازبینی: دی ۸۶ پذیرش: بهمن ۸۶

### چکیده

**مقدمه:** از آنجایی که در مورد اثرات وابستگی به مورفین بر یادگیری و حافظه فضایی تناقضاتی وجود دارد در این مطالعه اثر تجویز توأم نیتریک اکساید (NO) و مورفین در ناحیه CA3 هیپوکمپ بر یادگیری و حافظه فضایی در موشهای وابسته به مورفین بررسی شد.

**روش‌ها:** حیوانات مورد استفاده موشهای صحرائی نر بودند که پس از بیهوشی عمیق و کانول گذاری دو طرفه در ناحیه CA3 هیپوکمپ و طی یک هفته دوره بهبودی، به مدت ۵ روز دوره ایجاد وابستگی به مورفین را سپری کردند و سپس به شش گروه تقسیم شدند و هر گروه بترتیب سرم فیزیولوژی (شاهد)، L-Name، مورفین، مورفین و L-Arginine یا مورفین و L-Name را به حجم ۱ میکرولیتر از طریق کانولها دریافت کردند. وابستگی به مورفین با تزریق روزانه و زیر پوستی مورفین به مدت ۵ روز (روز اول ۱۰ mg/kg و چهار روز بعد ۲۰ mg/kg) القا و در پنج روز بعدی که ارزیابی یادگیری و حافظه فضایی در آنها با ماز آبی موریس صورت گرفت تزریق مورفین با دوز ۲۰ mg/kg تداوم یافت تا وابستگی همچنان وجود داشته باشد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که: L-Name میزان یادگیری را در موشهای وابسته به مورفین کاهش داده ولی بر بازیافت حافظه اثری نداشته است. تزریق مورفین در CA3 هیپوکمپ اثری بر یادگیری و حافظه فضایی نداشته است. کاربرد توأم مورفین و L-Arginine در CA3 توانست نه تنها اثرات مورفین را بر اختلال یادگیری حذف نماید بلکه اثر L-Arginine را بر یادگیری بهبود بخشد.

**نتیجه‌گیری:** اثر توأم مورفین و L-Arginine در حیوانات وابسته به مورفین باعث بهبود یادگیری و حافظه فضایی نسبت به گروههایی شده که مورفین و L-Arginine را به تنهایی دریافت کرده اند.

**واژه‌های کلیدی:** یادگیری، حافظه فضایی، وابستگی به مورفین، هیپوکمپ، NO

### مقدمه

حافظه فضایی ناحیه CA3 هیپوکمپ می‌باشد [۷، ۱۵]. یکی از مولکولهایی که در حافظه و یادگیری نقش مهمی دارد نیتریک اکساید (NO) است [۳]. ترکیبات تولید کننده NO از جمله L-Arginine حافظه و یادگیری را افزایش می‌دهند و L-Name که مهارگر سنتز نیتریک اکساید است باعث اختلال در حافظه و یادگیری می‌شود [۱۶، ۲۰]. وابستگی به مواد مخدر همچون

یادگیری توانایی تغییر رفتار و حافظه توانایی به یاد آوردن وقایع گذشته است [۶]. یکی از نواحی مهم درگیر در یادگیری و

pouraboli\_i@mail.uk.ac.ir

www.phypha.ir/ppj

\* نویسنده مسئول مکاتبات:

وبگاه مجله:

کتامین ( $78 \text{ mg/kg/ip}$ ) و گزیلازین ( $3 \text{ mg/kg/ip}$ ) بیهوش و در دستگاه استرئوتاکس قرار گرفتند و دو کانول راهنما به طور دو طرفه در ناحیه CA3 هیپوکمپ با مختصات ( $AP=3/5$ )،  $LA=\pm 3/8$  و  $DV=2/7$ ) قرار داده شد [۱۴]. پس از جراحی، حیوانات هفت روز دوره بهبودی را طی کردند. سپس وابستگی به مورفین در آنها القا شد.

وابستگی به مورفین با تزریق روزانه و زیرپوستی مورفین انجام شد. بطوریکه روز اول حیوانات دوز  $10 \text{ mg/kg}$  و چهار روز بعد هر روز دوز  $20 \text{ mg/kg}$  مورفین را دریافت کردند. جهت تایید بروز اعتیاد در روز پنجم چهار ساعت پس از آخرین تزریق مورفین، نالوکسان با دوز  $4 \text{ mg/kg/ip}$  تزریق و بروز علائم ترک مورفین طی نیم ساعت نمایانگر تایید روش فوق در ایجاد وابستگی به مورفین بود. در پنج روز بعدی که حیوانات با ماز آبی مورس مورد سنجش یادگیری و حافظه فضایی قرار گرفتند برای ماندگاری وابستگی به مورفین تزریق دوز  $20 \text{ mg/kg}$  مورفین ادامه یافت [۱، ۲، ۹].

سپس حیوانات به شش گروه تقسیم شدند و به ترتیب، ۱- سرم فیزیولوژی (گروه شاهد)، ۲-  $L\text{-Arginine } 0/3 \text{ M}$ ، ۳-  $L\text{-Name } 0/3 \text{ M}$  تهیه شده از شرکت سیگما انگلیس، ۴- مورفین ( $10 \text{ mg/rat}$ ) تهیه شده از شرکت داروپخش، ۵- مورفین و  $L\text{-Arginine } 0/3 \text{ M}$  و  $L\text{-Arginine } 10 \text{ mg/rat}$  و ۶- مورفین و  $L\text{-Name } 0/3 \text{ M}$  را به حجم  $1 \mu\text{l}$  از طریق کانولها دریافت کردند [۱۹]، که ۱۰ دقیقه قبل از تزریق روزانه مورفین برای تداوم وابستگی به مورفین، تزریق داخل مغزی داروها صورت می گرفت و در این گروهها یک ساعت پس از تزریق مورفین، سنجش یادگیری و حافظه با ماز آبی مورس مجهز به دوربین فیلمبرداری و نرم افزار ثبت اطلاعات انجام شد.

برای تزریق دارو در کانولها از سرنگ هاملتون استفاده شد و تزریقات با حجم  $1 \mu\text{l}$  به مدت ۲ دقیقه در هر کانول صورت گرفت. پس از انجام آزمایشها برای تایید محل کانولها، بعد از کشتن حیوانات و برش گیری از مغز و رنگ آمیزی نیسل، برشها با اطلس پاکسینوس مطابقت داده شد. داده های حیواناتی که محل کانولها منطبق با موقعیت مورد نظر نبود حذف شدند.

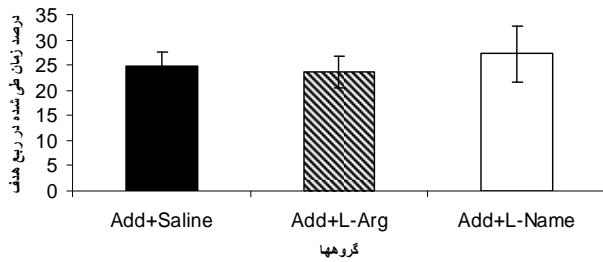
اطلاعات به دست آمده که شامل مدت زمان لازم برای یافتن سکو، مسافت طی شده و سرعت حرکت حیوان در چهار

مورفین یکی از عمده ترین مشکلات جوامع بشری است. عدم وجود روشهای مناسب برای درمان وابستگی به مواد مخدر می تواند ناشی از اثرات ناشناخته مورفین بر کارکردهای مختلف سیستم عصبی باشد. امروزه نقش سیستم اویپوئیدی در روند یادگیری و حافظه مورد توجه مطالعات تجربی می باشد [۱]. اویپوئیدها از جمله ترکیباتی هستند که مدارهای مغزی درگیر در حافظه و یادگیری را تحت تاثیر قرار می دهند [۱۸]. بدلیل آنکه در CA3 هیپوکمپ گیرنده های  $\mu$  اویپوئیدی که یکی از سه گیرنده مهم اویپوئیدی درگیر در ایجاد وابستگی به مورفین هستند فراوانند و مسیره های آوران به این ناحیه نیز حاوی نوروپپتیدهای اویپوئیدی اند لذا ثابت شده است که گیرنده های  $\mu$  اویپوئیدی در CA3 هیپوکمپ باعث تغییراتی در یادگیری و حافظه فضایی در موشهای صحرایی می گردند [۱۴]. در مورد مصرف مزمن اویپوئیدها و به خصوص مورفین و اثر آن بر حافظه و یادگیری تناقضاتی وجود دارد. می دانیم که مصرف مزمن مواد مخدر باعث ایجاد وابستگی می گردد و این روند تغییرات عصبی طولانی مدتی را در مغز ایجاد می کند [۱۰] و از آنجایی که وابستگی به مواد مخدر یکی از عمده ترین مشکلات جوامع بشری است بررسی سازوکار اختلالات ناشی از مصرف مزمن اویپوئیدها مورد توجه محققین می باشد [۵، ۱۸]. اثر تجویز مزمن مورفین بر یادگیری و حافظه توسط محققین متعددی مطالعه شده است. در یک سری از آزمایشها مشاهده شده است که اویپوئیدها سبب اختلال یادگیری و حافظه می گردند [۱۱]. از طرفی یافته هایی هم نشان می دهند که اویپوئیدها بر روند تغییر و شکل پذیری سیناپسی شبکه نورونی هیپوکمپ اثر مثبت دارند [۱، ۲۱].

لذا با توجه به تناقضات فراوان در زمینه اثر وابستگی به مورفین بر یادگیری و حافظه، در این مطالعه اثر کاربرد توأم NO و مورفین در ناحیه CA3 هیپوکمپ بر یادگیری و حافظه فضایی موشهای وابسته به مورفین مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روشها

در این مطالعه تعداد ۴۸ سر موش صحرایی نر در محدوده وزنی ۳۰۰-۲۵۰ گرم که در شرایط مناسب نگهداری می شدند مورد استفاده قرار گرفتند. حیوانات مورد مطالعه با مخلوط



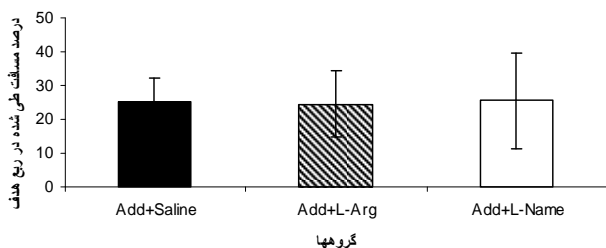
**شکل ۳-** درصد زمان طی شده در ربع هدف در روز پنجم در گروههای وابسته به مورفین دریافت کننده سرم فیزیولوژی (Add + Saline)، L-Arginine، (Add + L-Arg) L-Name، (Add + L-Name) L-Name، Add = addicted. n=8. L-Arg = L-Arginine

داری نسبت به گروه وابسته به مورفین زمان بیشتری را برای یافتن سکو طی کرده‌اند (شکل ۱).

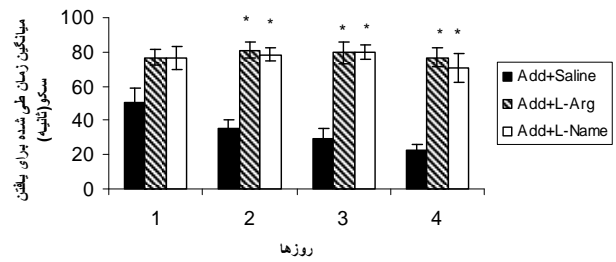
بررسی میانگین مسافت طی شده برای یافتن سکو در طی کل روزهای آموزش نشان داد که میانگین مسافت طی شده برای یافتن سکو در گروه دریافت کننده L-NAME در روزهای سوم [F(2,21)=7/48, P < 0/04], چهارم [P<0/001], و پنجم [F(2,21)=10/66] به طور معنی داری بیش از گروه وابسته به مورفین بود (شکل ۲).

بررسی درصد زمان و مسافت طی شده در ربع هدف در مرحله Probe trial (روز پنجم) جهت تایید یادگیری و تثبیت حافظه نشان داد که هیچ تفاوت معنی داری بین گروهها وجود ندارد (شکل های ۳ و ۴).

بررسی میانگین زمان لازم برای یافتن سکو در روزهای آموزش نشان داد که در روزهای دوم [F(2,21)=37/65, P < 0], سوم [F(2,21)=23/12, P < 0], چهارم [F(2,21)=24/83, P < 0] میانگین زمان لازم برای یافتن سکو در گروهی که بطور توأم مورفین و L-Arginine



**شکل ۴-** درصد مسافت طی شده در ربع هدف در روز پنجم در گروههای وابسته به مورفین دریافت کننده سرم فیزیولوژی (Add + Saline)، L-Arginine، (Add + L-Arg) L-Name، (Add + L-Name) L-Name، Add = addicted. n=8. L-Arg = L-Arginine

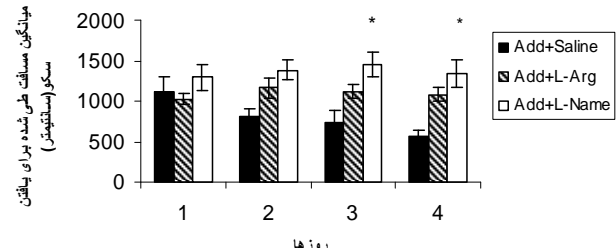


**شکل ۱-** میانگین زمان لازم برای یافتن سکو در گروههای وابسته به مورفین دریافت کننده سرم فیزیولوژی (Add + Saline)، L-Arginine، (Add + L-Arg) L-Name، (Add + L-Name) Name در روزهای دوم، سوم و چهارم گروههای دریافت کننده L-Arginine و L-Name اختلاف معنی داری نسبت به گروه وابسته به مورفین نشان دادند. \*P<0/05, n=8. Add = addicted, L-Arg = L-Arginine.

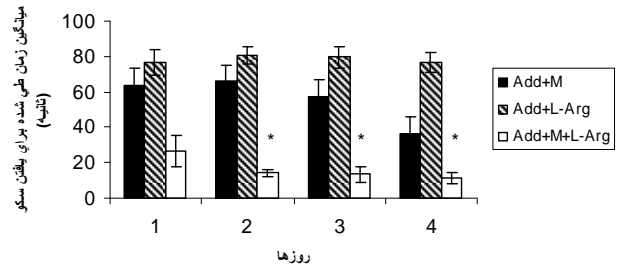
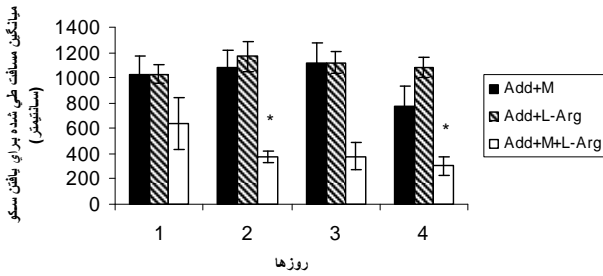
روز و درصد زمان و مسافت طی شده توسط حیوان در ربع دایره هدف در روز پنجم بود با روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه و دوطرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. همچنین از پس آزمون Tukey جهت تعیین گروههایی که با هم اختلاف معنی دار داشتند استفاده شد. در همه گروهها n=8 و حداقل سطح معنی داری تفاوتها P<0/05 در نظر گرفته شد و داده‌ها در کلیه نمودارها به صورت Mean±SEM نشان داده شده است.

## یافته‌ها

بررسی میانگین زمان لازم برای یافتن سکو طی روزهای آموزش نشان داد که در روزهای دوم [P < 0.5], سوم [F(2,21)=29/72, P < 0.5], چهارم [F(2,21)=32/05, P < 0.5] و پنجم [F(2,21)=22/53, P < 0.5] میانگین زمان لازم برای یافتن سکو در گروهی که L-Arginine و NAME را دریافت کرده بودند بطور معنی



**شکل ۲-** میانگین مسافت طی شده برای یافتن سکو در گروههای دریافت کننده سرم فیزیولوژی (Add + Saline)، L-Arginine، (Add + L-Arg) L-Name، (Add + L-Name) Name در روزهای سوم و چهارم گروه دریافت کننده L-Name اختلاف معنی داری نسبت به گروه وابسته به مورفین نشان داد. \*P<0/05, n=8. addicted, L-Arg = L-Arginine



**شکل ۷-** میانگین مسافت طی شده برای یافتن سکو در گروههای دریافت کننده مورفین (Add + M)، (Add + L-Arg) L-Arginine، مورفین و L-Arginine بطور توأم (Add + M + L-Arg). در روزهای دوم و چهارم گروه دریافت کننده مورفین و L-Arginine بطور توأم اختلاف معنی داری نسبت به گروههای دریافت کننده مورفین و L-Arginine به تنهایی نشان داده است. Add= addicted, L-Arg= L-Arginine, M= Morphine. n=8, \*P<0/05.

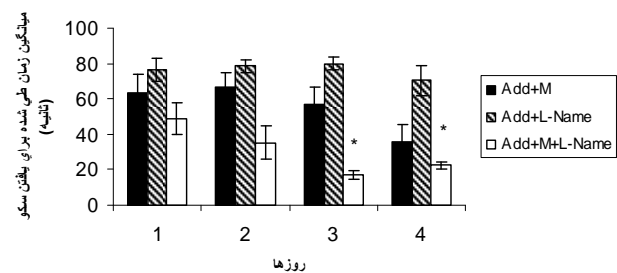
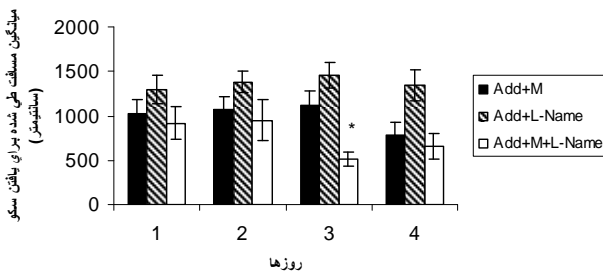
**شکل ۵-** میانگین زمان لازم برای یافتن سکو در گروههای دریافت کننده مورفین (Add + M)، (Add + L-Arg) L-Arginine، مورفین و L-Arginine بطور توأم (Add + M + L-Arg). در روزهای دوم، سوم و چهارم گروه دریافت کننده مورفین و L-Arginine بطور توأم اختلاف معنی داری نسبت به گروههای وابسته به مورفین دریافت کننده مورفین و L-Arginine به تنهایی نشان داده است. Add = addicted, L-Arg = L-Arginine, M = Morphine. n=8, \*P<0/05.

یافتن سکو در گروهی که بطور توأم مورفین و L-NAME را دریافت کرده بود کمتر از گروههای دریافت کننده مورفین و L-Name به تنهایی بوده است (شکل ۸).

دریافت کرده بود کمتر از گروههای دریافت کننده L-Arginine و مورفین به تنهایی بوده است (شکل ۵) و در روزهای سوم [F(2,21) =27/25, P < 0], چهارم P < [F(2,21) =9/71,0/001] میانگین زمان لازم برای یافتن سکو در گروهی که بطور توأم مورفین و L-NAME را دریافت کرده بود کمتر از گروههای دریافت کننده مورفین و L-Name به تنهایی بوده است (شکل ۶).

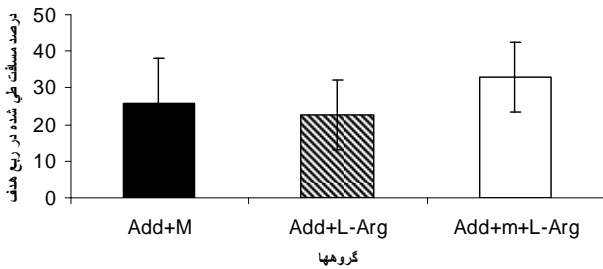
از نظر درصد زمان طی شده در ربع هدف در مرحله Probe trial در روز پنجم آزمایش هیچ تفاوت معنی داری بین گروههایی که بطور توأم مورفین و L-Arginine دریافت کرده بودند و گروههای دریافت کننده L-Arginine و مورفین به تنهایی دیده نشد (شکل ۹). بین گروه دریافت کننده مورفین و L-Name بطور توأم و گروههای دریافت کننده L-Name و مورفین به تنهایی هم تفاوت معنی داری وجود نداشت (شکل ۱۰).

در روزهای دوم [F(2,21) =15/19, P < 0], چهارم P < [F(2,21) =12/86], آموزش میانگین مسافت طی شده برای یافتن سکو در گروهی که بطور توأم مورفین و L-Arginine دریافت کرده بود کمتر از گروههای دریافت کننده L-Arginine یا مورفین به تنهایی بوده است (شکل ۷). به علاوه در روز سوم [F(2,21)=12/51,P<0] میانگین مسافت طی شده برای



**شکل ۸-** میانگین مسافت لازم برای یافتن سکو در گروههای دریافت کننده مورفین (Add + M)، (Add + L-Name) L-Name، مورفین و L-Name بطور توأم (Add + M + L- Name). در روز سوم گروه دریافت کننده مورفین و L-Name بطور توأم اختلاف معنی داری نسبت به گروههای دریافت کننده مورفین و L-Name به تنهایی نشان داده است. n=8, \*P<0/05. Add = addicted-, M = Morphine

**شکل ۶-** میانگین زمان لازم برای یافتن سکو در گروههای دریافت کننده مورفین (Add + M)، (Add + L-Name) L-Name، مورفین و L-Name بطور توأم (Add + M + L- Name). در روزهای سوم و چهارم گروه دریافت کننده مورفین و L-Name بطور توأم اختلاف معنی داری نسبت به گروههای دریافت کننده مورفین و L-Name به تنهایی نشان داده است. n=8, \*P<0/05. Add = addicted-, M = Morphine

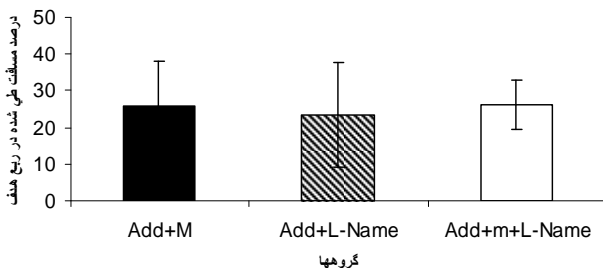


**شکل ۱۱-** درصد مسافت طی شده در ربع هدف در روز پنجم در گروههای وابسته به مورفین دریافت کننده مورفین (Add + M)، (Add + L-Arginine)، (Add + L-Arg) مورفین و L-Arginine بطور توأم (Add+M+L-Arg). n=8. Add = addicted, L-Arg = L- Arginine, M = Morphine

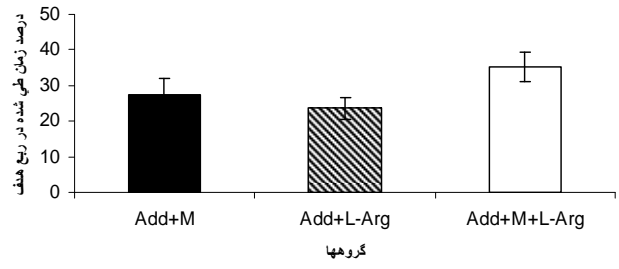
[۱۷] Ersin O. Koyla هم نشان داد که مهار نیتریک اکساید سنتاز هیپوکمپی توسط L-Name موفقیت را در ماز آبی موریس در موشهای سالم کمتر می کند [۷]. نیتریک اکساید که توسط تحریک گلوتاماتی می تواند تولید شود آگزوسیتوز و رهایش گلوتامات و دوپامین را از نورونهای مجاور القا می کند و بنابراین تشکیل سیناپسی را تحت تاثیر قرار می دهد. علاوه بر این NO بازجذب میانجی عصبی را در شکاف سیناپسی افزایش می دهد که می تواند حافظه و یادگیری را بهبود بخشد [۸].

البته نظریات ذکر شده همه در موشهای صحرایی سالم و غیر وابسته به مورفین بوده اند و هیچ گزارشی مبتنی بر اثر NO در ناحیه CA3 هیپوکمپ در موشهای وابسته به مورفین به دست نیامد. بر اساس نتایجی که به دست آوردیم می توان گفت که وابستگی به مورفین همانطوری که میتواند بر سیستم کولینرژیکی اثر مهاری داشته باشد می تواند باعث اختلال در سیستم تولید NO شده و در نتیجه باعث کاهش اثر NO بر یادگیری شود.

در این مطالعه نشان داده شد که مورفین مرکزی در موشهای وابسته به مورفین اثری روی یادگیری و حافظه فضایی



**شکل ۱۲-** درصد مسافت طی شده در ربع هدف در روز پنجم در گروههای وابسته به مورفین دریافت کننده مورفین (Add + M)، (Add + L-Name)، (Add + M + L- Name) مورفین و L-Name بطور توأم (Add + M + L- Name). n=8, \*P<0/05. Add = addicted-, M = Morphine

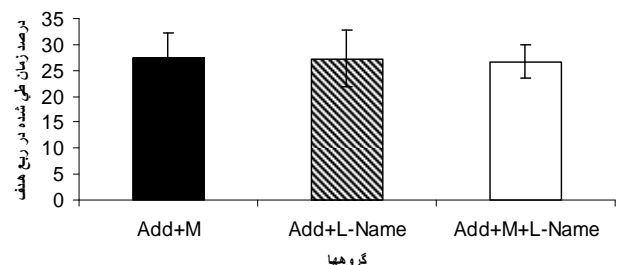


**شکل ۹-** درصد زمان طی شده در ربع هدف در روز پنجم در گروههای وابسته به مورفین دریافت کننده مورفین (Add + M)، (Add + L-Arginine)، (Add + L-Arg) مورفین و L-Arginine بطور توأم (Add+M+L-Arg). n=8. Add = addicted, L-Arg = L- Arginine, M = Morphine

گروههایی که بطور توأم مورفین و L-Arginine دریافت کرده بودند و گروههای دریافت کننده L-Arginine و مورفین به تنهایی دیده نشد (شکل ۱۱). بین گروه دریافت کننده مورفین و L-Name بطور توأم و گروههای دریافت کننده L-Name و مورفین به تنهایی هم تفاوت معنی داری وجود نداشت (شکل ۱۲).

## بحث

نتایج به دست آمده نشان داد که مها رگر NO یعنی L-Name در ناحیه CA3 هیپوکمپ در موشهای وابسته به مورفین باعث اختلال در یادگیری شده است اما اثری روی حافظه فضایی نداشته است. در مورد L-Name گزارشات زیادی در مورد اثر مهاری این ترکیب در تشکیل NO وجود دارد [ ۴ ]. Quing نشان داد که تزریق L-Name در آزمایش ماز آبی موریس حافظه و یادگیری را در موشهای صحرایی سالم مختل می کند [۱۶]. Vanaja هم گزارش کرد که L-Name حافظه و یادگیری را در موشهای صحرایی سالم مختل می کند



**شکل ۱۰-** درصد زمان طی شده در ربع هدف در روز پنجم در گروههای وابسته به مورفین دریافت کننده مورفین (Add + M)، (Add + L-Name)، (Add + L-Name) مورفین و L-Name بطور توأم (Add+M+L- Name). n=8, \*P<0/05. Add = addicted-, M = Morphine

NO رهایی گلوتامات و دوپامین را تحریک می کند و این میانجی های عصبی برای حافظه و یادگیری اساسی و مهم هستند [۱۷]. البته اطلاعاتی در مورد اثرات توأم مورفین مرکزی و NO در موشهای وابسته به مورفین در دست نیست. لذا فهم مکانیسم تغییرات مشاهده شده در مطالعه اخیر نیاز به تحقیقات بیشتری در آینده می باشد.

به طور کلی می توان گفت که L-Name در ناحیه CA3 هیپوکمپ باعث کاهش یادگیری شده است. مورفین مرکزی اثری بر یادگیری و حافظه نداشته است و تجویز توأم L-Arginine و مورفین باعث بهبود اختلال یادگیری ناشی از مورفین در موشهای وابسته به مورفین می گردد.

## تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از سرکار خانم دکتر مجلسی و جناب آقای دکتر شیبانی به واسطه راهنمایی های بی دریغشان در راه اندازی بساط ماز آبی مورفین و انجام این تحقیق اعلام می دارند.

## منابع

- [۱] پورمتعبد علی، طهماسیان مسعود، شاهی مریم، کرمی داربخانی حسین، فتح الهی یعقوب، اثر وابستگی به مورفین بر یادگیری و حافظه فضایی در موش صحرایی نر. *فیزیولوژی و فارماکولوژی* ۲ (۱۳۸۴) ۱۲۷ تا ۱۳۷.
- [۲] شیبانی وحید، سپهری غلامرضا، بقایی فریبا، فرزای فرد رسول، اثر تزریق نیتریک اکساید در پوسته هسته اکومینس بر علائم سندرم قطع مورفین در موش صحرایی نر. *مجله دانشگاه علوم پزشکی کرمان* ۴ (۱۳۸۴)، ۲۲۸ تا ۲۳۸.
- [3] Bohme GA, Bon C, Lemaire M, Reibaud M, Piot O, Stutzmann JM, Doble A, Blanchard JC, Altered synaptic plasticity and memory formation in nitric oxide synthase inhibitor-treated rats. *Neurobiology* 90 (1993) 9191-9194.
- [4] Christelle IM, Garthwaite B, On the role of nitric oxide in hippocampal long-term potentiation. *Neuroscience* 23 (2003) 1941-1948.
- [5] Eisch AJ, Barro M, Schad CA, Self DW and Nestler EJ, Opiates inhibit neurogenesis in the adult rat

نداشته است. گزارش شده که مورفین خوراکی به صورت مزمن باعث ایجاد نقص در یادگیری فضایی در آزمایش ماز آبی مورفین می شود [۱۲]. McNamara و Skelton نشان دادند که در موشهای صحرایی که با مورفین به صورت داخل صفاقی تیمار شده اند مسیر طولانی تری را برای پیدا کردن سکو در ماز آبی مورفین طی می کنند [۱۱]. از طرفی Lu Pu نشان داد که تزریق زیرپوستی مورفین به صورت حاد می تواند تخریب حافظه و یادگیری را که در اثر وابستگی به مورفین ایجاد شده است را بهبود بخشد [۱۰]. یکی از عللی که توجیه می کند تجویز حاد مورفین باعث تخریب روندهای حافظه و یادگیری می شود وابستگی سیستم اویپوئیدی با سیستم کولینرژیک است. آگونیستهای اویپوئیدی تمایل بالایی برای گیرنده های  $\mu$ -اویپوئیدی دارند و با اتصالشان به این گیرنده ها باعث مهار فعالیت کولینرژیک در هیپوکمپ شده و باعث کاهش رهایی استیل کولین در بسیاری از نواحی مغزی می شوند و اثر منفی روی حافظه و یادگیری ایجاد می کنند [۱۳].

نتایج این تحقیق نشان داد که تجویز توأم مورفین مرکزی و NO باعث بهبود یادگیری در موشهای وابسته به مورفین شده است اما روی حافظه فضایی بی اثر بوده است. بر اساس این نتایج می توان گفت که تجویز توأم مورفین مرکزی و L-Arginine نسبت به گروههایی که مورفین مرکزی یا L-Arginine را به تنهایی دریافت کرده بودند روی یادگیری اثر تقویتی داشته است یا می توان گفت که L-Arginine اثر مورفین را بر کاهش یادگیری حذف کرده و مورفین اثر L-Arginine را بر بهبود یادگیری تقویت کرده است. همانطور که قبلا ذکر شد NO و پیش ساز آن یعنی L-Arginine باعث تثبیت حافظه و یادگیری می شود [۱۶]. در مورد اثر مزمن مورفین در بعضی از مطالعات مشاهده شد که مورفین باعث القا اختلال در حافظه و یادگیری در آزمایش ماز آبی مورفین در موشهای سالم می شود [۱۲]. در حالیکه William J. Meilandt نشان داد که گیرنده های  $\mu$ -اویپوئیدی در ناحیه CA3 هیپوکمپ نقش مهمی در اکتساب و بازیابی حافظه فضایی دارند [۱۴]. آمنه رضایوف نشان داد که تجویز داخل صفاقی L-Arginine در موشهای سالم هیچ اثری در تشکیل حافظه نداشته است. اما تجویز توأم L-Arginine داخل صفاقی و مورفین زیر پوستی توانسته روی حافظه اثر مثبت بگذارد. در واقع فعال شدن سیستم سنتز کننده

- bursts titanic stimulation in hippocampal CA1 area of morphine dependent rats. *Brain Res* 769 (1997) 119-124.
- [14] Meilandt WJ, Barea-Rodriguez E, Harvey SA, Martinez JL, Role of hippocampal CA3  $\mu$ -opioid receptors in spatial learning and memory. *Neuroscience* 24 (2004) 2953-2962.
- [15] Nestler EJ, Common molecular and cellular substrates of addiction and memory. *Neurobiol Learn Mem* 78 (2002) 637-647.
- [16] Plech A, Klimkiewicz T, Maksym B, Effect of L-Arginine on memory in rats. *Pol J Pharmacol* 55 (2003) 987-992.
- [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* 88 (2006) 124-131.
- [18] Salmanzadeh F, Fathollahi Y, Semnani S, Shafizadeh M, Dependence on morphine impairs the induction of long-term potentiation in the CA1 region of rat hippocampal slices. *Brain Res* 965 (2003) 108-113.
- [19] Shiigi Y, Takahashi M, Facilitation of memory retrieval by pretest morphine mediated by mu but not delta and kappa opioid receptors. *Psychopharmacology* 102 (1990) 329-332.
- [20] Vanaja P, Leema R, Ekambaram P, Prevention of picrotoxin convulsions-induced learning and memory impairment by nitric oxide increasing dose of L-Arginine in rats. *Pharmacol Biochem Be* 75 (2003) 329-334.
- [21] Xie CW, Lewis DV, Endogenous opioids regulate long-term potentiation of synaptic inhibition in the dentate gyrus of rat hippocampus. *Neuroscience* 15 (1995) 3788-3795.
- hippocampus. *Proc Natl Acad Sci USA* 97 (2000) 7579-7584.
- [6] Ganong WF, Editor. *Review of Medical Physiology*. 19th ed. Appleton and Lange, Stanford, 1999, p. 255-265.
- [7] Kanite L, Koylu EO, Yazarbas G, Furedy JJ, Pogun S, The effect of nitric oxide synthase inhibition on cognitive ability and strategies employed for place learning in the water maze: sex differences. *Brain Res Bull* 62 (2003) 151-159.
- [8] Koylu EO, Kanit L, Taskiran D, Dagei T, Balkan B, Pogun S, Effects of nitric oxide synthase inhibition on spatial discrimination learning and central DA2 and mACh receptors. *Pharmacol Biochem Be* 81 (2005) 32-40.
- [9] 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 Be* 68 (2001) 507-513.
- [10] Lu P, Boa GB, Xu NJ, Ma L, Pei G, Hippocampal long-term potentiation is reduced by chronic opiate treatment and can be restored by re-exposure to opiates. *Neuroscience* 22 (2002) 1914 - 1921.
- [11] Mcnamara RK, Skelton RW, Pharmacological dissociation between the spatial learning deficits produced by morphine and diazepam. *Psychopharmacology* 108 (1992) 147-152.
- [12] Motamedi F, Ghasemi M, Davoodi F, Naghdi N, Comparison of learning and memory in morphine dependent rats using different behavioral models. *Ir J Pharmaceut Res* (2003) 225-230.
- [13] Mansouri FA, Motamedi F, Fathollahi Y, Atapour N, Semnani S, Augmentation of LTP induced by primed-