[Article in Persian] Physiology and Pharmacology Vol. 10, Summer 2006, 115-123.

# Assessment of the role of NMDA receptors located in hippocampal CA1 area on the effects of oral morphine dependency on spatial learning and memory in rat

**Ali Pourmotabbed[1*], Seyed Ershad Nedaei[2] and Entezar Mehrabinasab[1]**

*[1]Dept.of Physiology, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.*
*[2]Young Researcher Club, Islamic Azad University of Tehran, Iran.*

## Abstract

**Introduction:** It has been reported that oral morphine dependency facilitated formation of spatial learning and memory. In the present study the role of NMDA receptors located in hippocampal CA1 area of morphine dependent rats was studied.

**Methods:** Male rats were divided into 4 groups. Two cannulae were stereotaxically implanted bilaterally into the hippocampal CA1 area. After 5 days recovery, animals received morphine sulfate or sucrose for 30 consecutive days in drinking water. Morris water maze (MWM) studies were performed from day 26 to 30. In the above mentioned days, animals received bilateral intrahippocampal CA1 area injection of 3.7µg/0.5µl D,L-AP5 (NMDA receptors antagonist) or 0.5µl saline, 30 min before daily experimentation. Spatial learning and memory parameters were subjected to the analysis of variance (ANOVA).

**Results:** Morphine dependence potentiated spatial learning and memory parameters using MWM. D,L-AP5 could inhibit formation of spatial learning and memory in both control and dependent group.

**Conclusion:** Activation of NMDA receptors located in hippocampal CA1 area is essential for potentiation of spatial learning and memory in morphine dependence rats.

**Keywords:** Morris Water Maze, NMDA receptors, Oral morphine dependency, Spatial learning and memory, Hippocampal CA1 area.

* Corresponding Author Email: apourmotabbed@yahoo.com

فیزیولوژی و فارماکولوژی
جلد ۱۰، شماره ۲، تابستان ۱۳۸۵

# ارزیابی نقش گیرنده های NMDA موجود در ناحیه CA1 هیپوکمپ بر اثرات وابستگی خوراکی به مرفین در یادگیری و حافظه فضایی موش صحرایی

علی پورمتعبد[۱*]، سید ارشاد ندایی[۲]، انتظار محرابی نسب[۱]
۱- گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
۲- باشگاه پژوهشگران جوان، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران

دریافت: اردیبهشت ۱۳۸۵ بازبینی: مرداد ۱۳۸۵ پذیرش: شهریور ۱۳۸۵

## چکیده

**مقدمه:** قبلا گزارش شـده که وابسـتگی خوراکی به مرفین تشـکیل یادگیری و حافظه فضایی در موش صحرایی را تسهیل می کند. در مطالعه حاضر نقش گیرنده های ان متیل دی آسپارتات (NMDA) ناحیه CA1 هیپوکمپ در فرآیند مذکور بررسی شده است.

**روشـها:** به این منظور موشـهای صحرایی نر در ۴ گروه تقسیم گردیدند. ناحیه CA1 هیپوکمپ بصورت دو طرفه طبق اطلس پاکسینوس با دستگاه استریوتاکسی کانول گذاری شد. حیوانات ۵ روز پس از بهبودی به مدت ۳۰ روز محلول مرفین سولفات یا سوکروز در آب آشامیدنی دریافت نمودند. از روز ۲۶ تا ۳۰ مطالعات در ماز آبی موریس انجام شد. در روزهای مذکور حیوانات ۳۰ دقیقه قبل از آزمایش ۳/۷ میکروگرم در حجم ۰/۵ میکرولیتر D,L-AP5 (آنتاگونیست گیرنده های NMDA) یا ۰/۵ میکرولیتر سالین در هر طرف ناحیه CA1 هیپوکمپ دریافت می کردند. شاخصه های یادگیری و حافظه فضایی به روش آنالیز واریانس (ANOVA) بررسی شد.

**یافته ها:** نتایج پیشـنهاد می کند که وابسـتگی به مرفین شـاخصه های یادگیری و حافظه فضایی را در ماز آبی موریس تقویت می کند. این شـاخصه ها با تجویز D, L-AP5 در هر دو گروه شاهد و وابسته مهار می شود.

**نتیجه گیری:** فعال شدن گیرنده های NMDA در ناحیه CA1 هیپوکمپ در تقویت یادگیری و حافظه فضایی در حیوانات وابسته نقش اساسی دارد.

**واژگان کلیدی:** ماز آبی موریس، گیرنده های NMDA، وابستگی خوراکی به مرفین، یادگیری و حافظه فضایی، CA1 هیپوکمپ

## مقدمه

بسـیاری از تحقیقاتی که در زمینه نقش اپیوئیدها و از جمله مرفین بر فرآیندهای مغزی صورت گرفته است مربوط به مکانیسم های کنترل درد [۳و۱۰] و یا مباحث مربوط به وابسـتگی و اعتیاد به این مواد می باشـد. امروزه به جز موارد ذکر شـده اعمـال گوناگون دیگری برای اینگونه مواد متصور می باشـند. وجود اپیوئیدهای آندوژن و توزیع گسترده گیرنده های متنـوع این مـواد در قسـمتهای مختلف بدن بخصوص سیسـتم عصبی مرکـزی، بر پیچیدگیهای عملکرد آنها افزوده اسـت. علاوه بر اثرات حاد و سـریع بر عملکرد قسـمتهای مختلف بدن، اپیوئیدها مـی توانند اثرات دراز مدتی را ایجاد کنند و مفاهیمی چون وابسـتگی (Dependency) و تحمل (Tolerance) بـه اپیوئیدها تحت تاثیر حضور مداوم و بلند مدت ایـن داروها، از اثـرات ماندگار این مواد حکایت دارد. بـه علاوه اعتیاد به مخدرها وابسـته به تجربه اسـت و در بسـیاری از موارد، مشابه روندهای یادگیری و حافظه است. ترکیبات مختلفی که یادگیری و حافظه را مختل می کنند، مانع از ایجاد تحمل و وابسـتگی به مخدرها نیز می شوند [۱۲]. تلاشـهای زیادی برای بررسـی مکانیسـم و محل وقوع این پدیده ها در سیستم عصبی مرکزی انجام شده است.

ناحیه هیپوکمپ بخشی از سیستم لیمبیک است که نقش فیزیولوژیک آن در بـروز رفتارهای هیجانی و دخالـت آن درپردازش اطلاعات فضایی و برخی از انواع حافظه و یادگیری مشـخص شـده اسـت [۶]. از طرف دیگـر گیرنده های NMDA بصورت گسـترده ای در نقاط مختلف مغز توزیـع شـده اند. تراکم این گیرنده ها در هسـته هـای جانبی قاعده ای آمیگدال زیاد است اما بیشترین تراکم گیرنده های مذکور در ناحیه CA1 و شـکنج دندانه ای هیپوکمپ وجود دارد. تجویز آنتاگونیسـتهای گیرنده NMDA خصوصـا AP5 به داخـل این نواحی و سـایر مناطق مغزی فرآیند یادگیری حیوانات آزمایشگاهی را در مدلهای مختلف تجربی تحت تاثیـر قرار می دهد. همچنین تجویز آنتاگونیسـتهای رقابتی و غیر رقابتی

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبات:
apourmotabbed@yahoo.com

NMDA القاء LTP در ناحیه CA1 هیپوکمپ را مهار می کند. از طرفی گیرنـده های مذکور در فرآیند ایجاد حافظه نیز مؤثرند و لذا تجویز AP5 (آنتاگونیسـت رقابتی گیرنده NMDA ) یا MK-801 (آنتاگونیست غیر رقابتی گیرنـده مذکور) در تضعیف یادگیری و حافظه مؤثرند [۷]. با توجه به گسـتردگی و تنوع اپیوئیدهای با منشـاء درونـی در ناحیه هیپوکمپ و توزیع گسـترده گیرنده های اپیوئیدی در ناحیـه هیپوکمپ و اثر این مواد بـر روند یادگیـری، احتمال آن می رود که این ناحیـه مهم مغز از تجویز مزمـن مرفین متاثر گردد [۱۱]. همچنین گزارش شـده که تجویز مزمن مرفیـن تشـدید LTP در ناحیه CA1 هیپوکمپ را باعث می شـود. در مطالعات صورت گرفته نشـان داده شده است که تجویز مرفین با توجه به نوع تجویز و مقدار آن دارای اثرات متفاوت و گاه متضادی بر انواع حافظه اسـت [۲۳و۲۷]. در آزمایشات قبلی آزمایشگاه ما ایجاد وابستگی خوراکی به مرفین فرآیند یادگیری و حافظه فضایی در موشهای صحرائی را تقویت کرد [۱].

در رابطـه با وسـاطت گیرنده هـای NMDA در اثـرات مرفین در سیسـتم اعصاب مرکزی نیز گزارشاتی ارائه شـده برای مثال عنوان شده کـه گیرنده های اپیوئیدی و گیرنده های NMDA در پیشـرفت فرآیند وابسـتگی به مرفین با یکدیگر همکاری دارند [۱۷]. در بحث سـلولی هم LTPبه عنوان یکی از مکانیسـمهای ایجاد حافظه فضایی ذکر می گردد [۷] . در این رابطه مکانیسـم های متعددی مسـئول بروز LTP گزارش شـده اند که در این میان به نظر می رسـد که مکانیسمهای اصلی شامل فعال شـدن گیرنده های گلوتاماتی از نوع NMDA و کانالهای کلسیمی وابسـته به ولتاژ باشد [۱۳]. اگر چه می توان گفت مکانیسم های دیگری هم نظیر فعال شدن گیرنده های متابوتروپیک گلوتاماتی در تولید و ابقاء LTP در ناحیه CA1 هیپوکمپ دخیل می باشند [۱۴]، اما بر اساس نوع تحریـک الکتریکی که منجر به بروز LTP در سـلولهای پیرامیدال ناحیه CA1 هیپوکمپ می شـود مکانیسم های متفاوتی دخیل اند، بطوری که برای ایجاد OPS LTP وابسـته به گیرنده های NMDA باید شـاخه های جانبی شـافر را تحـت تحریکات الکتریکی بـا فرکانس ۱۰۰ هرتز قرار داد اما ایجاد LTP مذکور که وابسـته به کانالهای کلسـیمی ولتاژی می باشـد نیازمند تحریک مسـیر شـافر با فرکانس ۲۰۰ هرتز می باشد. نتایج این مطالعه نشـان می دهد که ایجاد وابسـتگی خوراکی به مرفین باعث می شـود که تحریکات الکتریکی با فرکانس ۱۰۰ هرتز در مسـیر جانبی شـافر علاوه بر افزایش فعالیت گیرنده های NMDA ، کانالهای کلسـیمی ولتاژی را نیـز فعال نموده و لذا LTP تقویت شـده ای ایجاد می شود [۱۳].

همانگونه که بیان شـد نقش گیرنده هـای NMDA واقع در ناحیه CA1 هیپوکمـپ در فرآیند ایجاد یادگیری و تثبیت حافظه فضایی مورد تاکید قرار دارد. از طرف دیگر شواهد بیانگر تاثیر مثبت وابستگی خوراکی به مرفین در فرآیند مذکور بوده و در بحث سلولی مشخص شده که گیرنده هـای فوق الذکـردر تولید و ابقاء OPS LTP (و نه همه انواع LTP) در ناحیه CA1 هیپوکمپ موثرنـد. بنابراین با فرض اینکه LTP به صورت بالقوه در مکانیسم های یادگیری و حافظه دخیل است احتمال داده می شود گیرنده های NMDA در ناحیه CA1 هیپوکمپ به نحوی در وسـاطت عمل وابسـتگی خوراکی به مرفین در تقویـت یادگیری و حافظه فضایی موثر باشـند. لذا جهت بررسـی این احتمال مطالعه حاضـر انجام گردید. بدیهی اسـت مجموع نتایج حاصل از تحقیقات مشـابه در روشـن نمودن زوایای علمی ناشناخته اثرات مرفین در سیستم عصبی موثر است.

## مواد و روشها

### حیوانات

در این تحقیق از موشـهای صحرائـی نر نژاد N-MRI در محدوده وزنی ۳۵۰-۲۵۰ گرم، تهیه شـده از موسسـه رازی کرج اسـتفاده شـد. حیوانات در قفسـهای ۲ تایی با سـیکل تاریکی روشـنایی ۱۲ سـاعته و در دمای ۲۴-۲۲ درجه سـانتی گراد قرار داشـتند. حیوانات باستثناء زمان آزمایش به آب و غذای کافی دسترسی داشتند. در هر سری آزمایش ۷ تا ۹ راس حیوان مورد استفاده قرار گرفت.

### جراحی و کانول گذاری

بـرای تزریـق دارو در ناحیـه CA1 هیپوکمـپ، کانـول راهنمـا (Guide canulla) در داخل جمجمه حیوان قرار داده شد. به این منظور، حیوانات توسـط داروی کتامین (۳۰ mg/kg) و زایلازین (۲/۵ mg/kg) (داخل صفاتی) بیهوش می شـدند [۵]. سـپس موشـها در داخل دستگاه اسـتریوتاکس قرار داده می شدند، موی سر آنها چیده می شد و کانولهای راهنما در فاصله ۰/۷ میلیمتری بالای ناحیه CA1 هیپو کامپ با استفاده از سـر سـرنگ ۲۲ و بر طبق اطلس پاکسـینوس [۲۰] در مختصات ۳/۸ میلیمتـر پایین تر از برگما، ۲/۲± میلیمتر از خط وسـط و ۲/۵ میلیمتر از سـطح جمجمه قرار داده می شـد. اطراف کانول فوق در سطح جمجمه با اسـتفاده از سیمان دندانپزشـکی و یک عدد پیچ عینک محکم گردید. در طی روزهای آزمایش، هر روز ۳۰ دقیقه قبل از شـروع آزمایشـات در ماز آبی موریس، تزریق از طریق کانول راهنما و توسـط سـرنگ هامیلتون ۱ میکرولیتری که متصل به ۱۵ سانتی متر لوله پلی اتیلن و کانول تزریق بود انجام می شـد. کانول تزریق از سر سرنگ دندانپزشکی شماره ۲۷ ساخته شـده بود و طوری بریده شـده بود که هنگامی که در داخل کانول تزریق قرار می گرفت ۰/۷ میلیمتر از سـر کانول بیرون بیاید و مواد به راحتی در محل مورد نظر تزریق و منتشـر شـود (۰/۴۵ میکرولیتر در هر طرف در مدت ۳ دقیقه). پس از تزریق، سـرنگ به مدت ۳۰ ثانیه در محل تزریق باقی می ماند تا مایع بطور کامل به فضاهای بافتی نفوذ کند، سپس کانول به آرامی از محل خارج می شد.

### ماز آبی موریس

از یک حوضچه اسـتوانه ای شکل سیاه رنگ با قطر داخلی ۱۴۰cm

و ارتفاع ۸۰cm تشکیل شده که تا ارتفاع ۳۵ cm با آب ۲±۲۰ درجه سانتیگراد پر شده بود. یک سکوی کوچک از جنس پلکسی گلاس شفاف با قطر ۱۰ cm که یک سانتی متر زیر آب است در مرکز ربع دایره جنوب غربی حوضچه قرار گرفت. هر موش به مدت ۵ روز مورد آزمایش قرار می گرفت که موقعیت سکو در طول ۴ روز ابتدای آزمایش ثابت بود. یک فرستنده نور مادون قرمز به موش متصل شده و مسیر حرکت حیوان از طریق یک دوربین مدار بسته که نور مادون قرمز را ردیابی می کرد به کامپیوتر انتقال یافته و پارامترهای مختلف از جمله مدت زمان سپری شده و مسافت طی شده برای رسیدن به سکو، و سرعت شنای حیوان بوسیله کامپیوتر ثبت و آنالیز می گردید. آزمایشها در اتاق نیمه تاریک انجام می شد که علائم قابل رویتی از قبیل کامپیوتر، قفسه ها، ساعت، پرده ها، پنجره ها و... در آن وجود داشت و حیوان با استفاده از علائم خارج مازی، موقعیت سکوی پنهان را پیدا می کرد.

## روش آزمایش

هر موش به مدت پنج روز و هر روز یک بلاک (هر بلاک شامل ۴ کارآزمایی) تحت آزمایش قرار می گرفت. در چهار روز اول در هر کارآزمایی حیوان به طوری که صورتش رو به دیوار حوضچه باشد، از یکی از چهار نقطه (شمال، جنوب، شرق یا غرب) در آب رها می شد. هر یک از چهار نقطه شروع در هر بلاک یک بار استفاده می شد و ترتیب آنها به صورت تصادفی توسط کامپیوتر تعیین می گردید. یک کارآزمایی زمانی تمام می شد که موش بر روی سکو رفته و یا بدون یافتن سکو ۶۰ ثانیه سپری شده باشد. سه کارآزمایی دیگر به همین ترتیب صورت می گرفت. مرحله probe trial : در روز پنجم جهت بررسی دقت و صحت یادگیری اولیه انجام می گرفت. در این مرحله از آزمایش، سکو از حوضچه خارج شده و حیوان طی یک بلاک (شامل ۴ کارآزمایی) اما فقط از یکی از نقاط فوق الذکر (که توسط کامپیوتر تعیین می شد) در آب رها می گردید. مدت زمان سپری شده توسط حیوان در ربع دایره هدف که در طی روزهای آموزش سکو در آن قرار داشت بوسیله کامپیوتر ثبت و آنالیز می گردید.

## روش القای وابستگی به مرفین

در گروههای وابسته ایجاد وابستگی به مرفین با الگوی زیر انجام گرفت: مرفین سولفات (تماد ایران) به ترتیب ۰/۱ ، ۰/۲ و ۰/۳ میلی گرم در میلی لیتر هر یک به مدت ۴۸ ساعت و ۰/۴ mg/ml در طی روزهای بعد تا روز ۳۰ ام در آب آشامیدنی حیوان اضافه می شد. به منظور پوشانیدن طعم تلخ مرفین سولفات، سوکروز (۴۰ gr/lit) به آب آشامیدنی اضافه شد. در طی مطالعات مقدماتی، مقدار متوسط دریافت آب و بنابراین مرفین سولفات در بالاترین دوز (۰/۴ mg/ml) اندازه گیری شد که حدود ۱۳۷ $mg\ kg^{-1}\ day^{-1}$ بود. حیوانات گروه شاهد بطور مشابه فقط تحت تجویز خوراکی سوکروز (۴۰ gr/lit) به مدت ۳۰روز قرار گرفتند[۴].

## گروه بندی آزمایش

حیوانات پس از عملیات کانول گذاری و طی دوره بهبودی به مدت ۵ روز، بطور تصادفی در ۴ گروه تقسیم شدند:

۱- گروه سوکروز- سالین: که در آب آشامیدنی خود سوکروز دریافت می کردند و در هر طرف ناحیه CA1 هیپوکمپ آنها ۰/۵ میکرولیتر سرم فیزیولوژی تزریق می شد (سرم فیزیولوژی حلال D,L-AP5 می باشد).

۲- گروه سوکروز- AP5: حیوانات این گروه در آب آشامیدنی خود سوکروز دریافت می کردند و در هر طرف ناحیه CA1 هیپوکمپ، ۳/۷ میکروگرم D,L- AP5 (آنتا گونیست گیرنده های NMDA) با حجم کل ۰/۵ میکرولیتر تزریق می شد [۵]. ضمنا در مطالعات مقدماتی از دوزهای مختلف (۵-۲/۵ میکروگرم) AP5 استفاده شد که بهترین پاسخ در دوز ۳/۷ میکروگرم حاصل شد.

۳- گروه مرفین- سالین: حیوانات این گروه در آب آشامیدنی خود مرفین دریافت می کردند و در هر طرف ناحیه CA1 هیپوکمپ ۰/۵ میکرولیتر سرم فیزیولوژی تزریق می شد.

۴- گروه مرفین- AP5: موشهای این گروه در آب آشامیدنی خود مرفین سولفات دریافت می کردند و در هر طرف ناحیه CA1 هیپوکمپ ۳/۷ میکروگرم D,L AP5 با حجم کل ۰/۵ میکرولیتر تزریق می شد.

لازم به ذکر است که بطور کلی تعداد ۱۸ راس موش در گروههای مختلف به علل مرگ و میر و یا کنده شدن کانول ها در مراحل مختلف حذف شدند.

## تایید بافتی

پس از انجام آزمایشات و در روز سی ام، ۲ میکرولیتر متیلن بلو در کانولها تزریق می شد، سپس هر حیوان تحت بیهوشی عمیق تا ایجاد مرگ قرار می گرفت (لذا نکات اخلاقی به طور کامل رعایت شد). سپس مغز آنها خارج گشته و پس از فیکس شدن در محلول فرمالین ۱۰٪ جهت تایید محل تزریق برش داده و رنگ آمیزی می شد. تنها نتایج حاصل از نمونه هایی که محل کانول در آنها تایید می شد در بررسی های آماری مورد استفاده قرارمی‌گرفت.

## بررسی آماری

نتایج با آزمون آنالیز واریانس یکطرفه One-way ANOVA; variable: day و دو طرفه Two-way ANOVA with repeated measure; variable:experimental groups,day مورد بررسی قرار گرفت و در مواقعی که اختلاف معنی دار بود، آزمون Tukey انجام گردید. $P<0.05$ به عنوان معیار معنی دار بودن اختلاف بین گروه های مورد آزمایش در نظر گرفته شد.

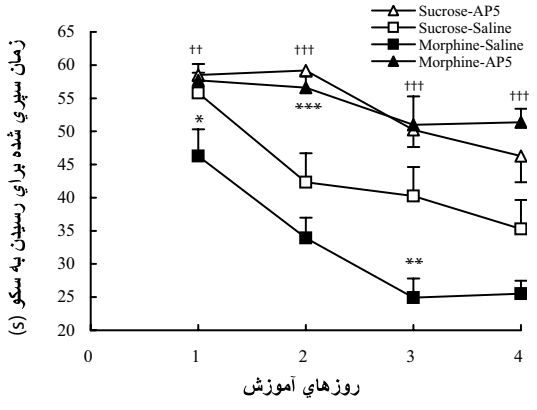
## یافته ها

### بررسی فرآیند یادگیری در طی روزهای آموزش

در این قسمت نتایج حاصل از میانگین زمان سپری شده برای رسیدن به سکو (Escape latency)، میانگین مسافت طی شده برای رسیدن به سکو و میانگین سرعت شنای حیوانات در روزهای آموزش مورد مطالعه قرار گرفت.

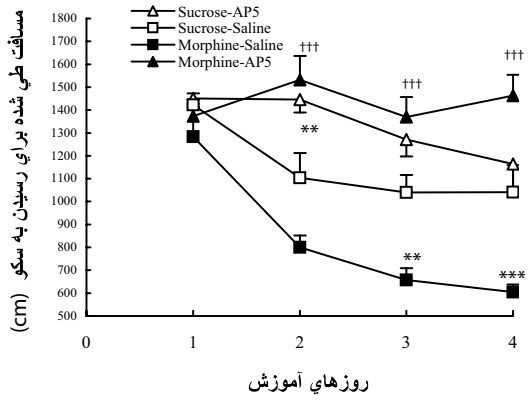
**Escape latency:** نتایج نشان داد که بطور کلی در شاخصه میانگین زمان سپری شده برای رسیدن به سکو در بین روزهای آموزش در گروه سوکروز- AP5 [F(3,24)=9/4681,P=0/0002]، سوکروز- سالین [F(3,21)=8.2638,P=0.0008] و مرفین- سالین [F(3,18)=13.3617, P=0.0000] تفاوت وجود دارد. این تفاوت در گروه سوکروز- AP5 در روز اول با روزهای سوم (P<0.05) و چهارم (P<0.01) معنی دار است. تفاوت مذکور در گروه سوکروز- سالین بین روز اول با روزهای دوم (P<0.05)، سوم (P<0.01) و چهارم (P<0.001) آموزش معنی دار است. همچنین در گروه مرفین- سالین تفاوت بین روز اول با روزهای دوم (P<0.05)، سوم (P<0.001) و چهارم (P<0.001) آموزش معنی دار است. اما در گروه مرفین- AP5 بین میانگین زمان سپری شده برای رسیدن به سکو در روز اول با هیچکدام از روزهای آموزش تفاوت معنی داری وجود ندارد. همچنین بررسی نتایج حاصل از میانگین زمان لازم برای رسیدن به سکو نشان داد که بطور کلی بین گروه های آزمایش [F(3,27)=36.988 , P=0.0000]، روزهای آزمایش [F(3,81)=29.7911 , P=0.0148] و برهمکنش گروه ها و روزها [F(9,81)=2.4089 , P=0.148] تفاوت وجود دارد. آنالیز Post hoc نشان داد این تفاوت بین گروه های سوکروز- سالین و مرفین- سالین در روزهای اول (P<0.05) و سوم (P<0.01) معنی دار است. همچنین تفاوت بین گروه های مرفین- سالین و مرفین- AP5 در روزهای اول (P<0.01)، دوم (P<0.001)، سوم (P<0.001) و چهارم (P<0.001) معنی دار است. از طرف دیگر این تفاوت بین گروه های سوکروز- سالین و سوکروز- AP5 در روز دوم (P<0.001) معنی دار است. اما تفاوت بین گروه های سوکروز- AP5 و مرفین- AP5 در هیچکدام از روزهای آموزش معنی دار نیست (شکل۱).

**میانگین مسافت طی شده برای رسیدن به سکو در روزهای آموزش:** بطور کلی بین میانگین مسافت طی شده برای رسیدن به سکو در بین روزهای آموزش در گروه سوکروز- AP5 [F(3,24)=5.9596,P=0.0034]، سوکروز - سالین [F(3,21)=3.6722,P=0.0285] و مرفین- سالین [F(3,18)=18.5295,P=0.0000] تفاوت وجود دارد. این تفاوت در گروه سوکروز- AP5 بین روز اول و روز چهارم (P<0.01) آموزش معنی داراست. تفاوت مذکور در گروه سوکروز- سالین بین روز اول با روزهای



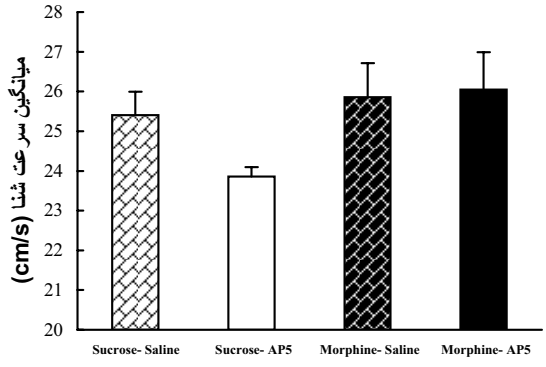

**شکل ۱**- مقایسه زمان سپری شده برای رسیدن به سکو (Escape latency) در چهار گروه مورد مطالعه در طی روزهای آموزش (۹-۷ =n)
P<0.05* و P<0.01** و P<0.001*** نسبت به گروه سوکرز-سالین و P<0.01†† و P<0.001††† نسبت به گروه مرفین- سالین

دوم (P<0.05)، سوم (P<0.05) و چهارم (P<0.05) آموزش معنی




**شکل ۲**- مقایسه مسافت طی شده برای رسیدن به سکو در چهار گروه مورد مطالعه در طی روزهای آموزش (۹-۷ =n)
P<0.01** و P<0.001*** نسبت به گروه سوکرز-سالین و P<0.001††† نسبت به گروه مرفین-سالین

داراست. همچنین این تفاوت در گروه مرفین- سالین بین روز اول با روزهای دوم (P<.001)، سوم (P<0.001) و چهارم (P<0.001) آموزش معنی دار است. اما در گروه مرفین- AP5 بین میانگین مسافت طی شده برای رسیدن به سکو در روز اول با هیچکدام از روزهای آموزش تفاوت معنی داری وجود ندارد. همچنین بررسی نتایج حاصل از میانگین مسافت طی شده برای رسیدن به سکو نشان داد که بطور کلی تفاوت بین گروههای آزمایش [F(3,27)=24.8638,P=0.0000]، روزهای آزمایش [F(3,81)=14.9237,P=0.0000] و برهمکنش گروه ها و روزها [F(9,81)=3.8260,P=0.0004] وجود دارد. آنالیز Post hoc نشان داد این تفاوت بین گروه های سوکروز- سالین و مرفین - سالین در روزهای سوم (P<0.01) و چهارم (P<0.001) معنی دار است . همچنین تفاوت بین گروه های مرفین- سالین و مرفین- AP5 در

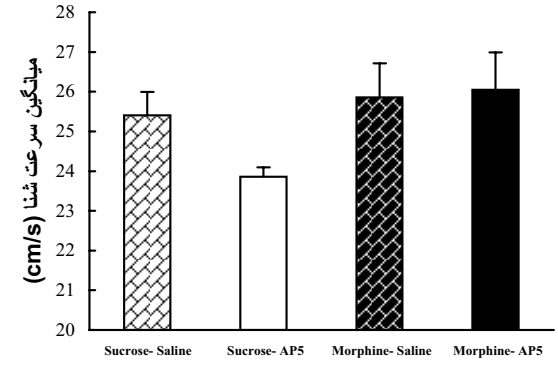



**شکل ۳**- مقایسه میانگین سرعت شنای حیوانات در چهار گروه آزمایش در طی روزهای آموزش (۹-۷ =n)

روزهای دوم ($P<0.001$)، سوم ($P<0.001$) و چهارم ($P<0.001$) معنی دار است. از طرف دیگر این تفاوت بین گروه های سوکروز- سالین و سوکروز- AP5 در روز دوم ($P<0.05$) معنی دار است. اما تفاوت بین گروه های سوکروز- AP5 و مرفین- AP5 در هیچکدام از روزهای آموزش معنی دار نیست (شکل۲).

**نتایج حاصل از میانگین سرعت شنای حیوانات در روزهای آموزش:** در این مرحله میانگین سرعت شنای حیوانات در هر گروه در مجموع چهار روز آموزش با یکدیگر مقایسه شد. نتایج نشان می دهد که افزایش سرعت در گروههای مرفین- سالین و مرفین- AP5 وجود دارد، هر چند که این تفاوت از لحاظ آماری بین چهار گروه مورد مطالعه معنی دار نیست (شکل۳).

**بررسی نتایج حاصل از درصد حضور حیوان در ربع دایره هدف در مرحله probe trial:** درصد حضور حیوانات در ربع دایره هدف (ربع دایره ای که در طی روزهای آموزش سکو در آن قرار داشت)




**شکل ٤**- مقایسه در صد حضور حیوانات در ربع دایره هدف در مرحله Probe trial در گروههای مورد مطالعه (۹-۷ =n)

در مرحله probe trial نیز در گروه های مورد مطالعه بررسی شد. نتایج حاکی از آن است که هر چند درصد حضور حیوان در ربع دایره هدف در گروه های مرفین- سالین، سوکروز- سالین و مرفین-AP5 بیشتر از گروه سوکروز- AP5 است، اما این میزان تفاوت به لحاظ آماری معنی دار نیست (شکل۴).

## بحث

هدف از تحقیق حاضر مطالعه نقش گیرنده های NMDA موجود در ناحیه CA1 هیپو کامپ بر اثرات ایجاد شده توسط وابستگی به مرفین بر فرآیندهای یادگیری و حافظه فضایی در موشهای صحرایی بود. در این تحقیق برای ایجاد وابستگی از روش تجویز خوراکی مرفین استفاده شد. ایجاد پدیده وابستگی توسط این روش در آزمایشات قبلی گزارش شده است[۱]. علت انتخاب این روش این است که اولاً از ایجاد استرس ناشی از تزریق دارو و یا کاشت زیر جلدی جلوگیری می شود که در نتیجه مانع از تداخل اثر کته کولامین ها و گلوکوکورتیکوییدهای مترشحه ناشی از استرس می گردد وثانیاً این مدل ایجاد وابستگی شباهت بیشتری به مدل اعتیاد انسانی دارد. زیرا میزان مصرف مرفین توسط حیوان تعیین می گردد نه شخص آزمایشگر [۴].

در مدل ماز آبی موریس از ویژگیهای مدت زمان لازم (escape latency) و مسافت طی شده برای رسیدن به سکوی پنهان و سرعت شنای حیوانات در طی روزهای آموزش به عنوان شاخصه های یادگیری فضایی استفاده شد. بر این اساس چنانچه حیوانات آزمایشگاهی در روز آخر آموزش نسبت به روز اول بتوانند سکوی پنهان در آب را در مدت زمان کمتر و طی مسافت کمتری پیدا نمایند روند یادگیری فضایی در آنها مثبت ارزیابی می شود. به هر حال این یافته ها هنگامی معنی پیدا میکند که با کاهش سرعت شنای حیوانات همراه نباشد. از طرف دیگر در مرحله Probe trial که با حذف سکو از حوضچه آزمایش همراه است چنانچه فرآیند تثبیت حافظه فضایی اتفاق افتاده باشد حیوانات باید بیشترین زمان و حضور را در ربع دایره ای داشته باشند که در روزهای آموزش سکو در آن قرار داشت (ربع دایره هدف) [۱۸]. لذا در تحقیق حاضر نیز از شاخصه های فوق الذکرجهت بررسی روند یادگیری و حافظه فضایی استفاده شد.

قسمتی از نتایج مطالعه حاضر نشان داد که فرآیند یادگیری فضایی در گروه سوکروز- سالین درطی روزهای اول تا چهارم آموزش ایجاد شد، بطوری که کاهش معنی داری در فاصله پیدا کردن سکوی پنهان ومسافت طی شده برای رسیدن به آن در طی روزهای آموزش ایجاد شد. که این اثرات موید روند یادگیری فضایی است [۱۸]. همچنین قسمت دیگر نتایج نشان داد که مهار گیرنده های NMDA ناحیه CA1 هیپوکمپ درگروه سوکروز -AP5 یادگیری را شدیدا کاهش می دهد بطوری که در کلیه روزهای آموزش سبب ایجاد افزایش در زمان لازم برای رسیدن به سکوی پنهان ومسافت طی شده برای رسیدن به آن نسبت به گروه سوکروز- سالین شد. همچنین در مرحله probe trial نیز مدت زمان

سپری شده در ربع دایره هدف نسبت به گروه سوکروز- سالین کاهش نشان داد، هر چند که این کاهش از لحاظ آماری معنی دار نیست. فرآیند یادگیری در گروه سوکروز -AP5 نیز از روز اول تا چهارم آموزش تاحد زیادی سرکوب شد هرچند بطور کامل از بین نرفت تحقیقات گذشته نشان داده اند که فعال شدن گیرنده های NMDA در روند یادگیری و حافظه فضایی نقش اساسی دارند. بطوری که نشان داده شده که گیرنده های NMDA موجود در هیپوکمپ در تشکیل حافظه فضایی نقش دارند و این اثر با تجویز AP5 تا حدود زیادی مهار می شود [۲۴و۳۱]. همچنین Shiflett و همکاران نشان دادند که تجویز AP5 حافظه طولانی مدت وابسته به گیرنده های NMDA هیپوکمپ را به شدت تخریب می کند [۲۶]. Steele و همکاران نیز ثابت کردند که تجویز داخل هیپوکمپیAP5 با مهار گیرنده های NMDA در تخریب انواع حافظه نقش دارد [۲۸]. در نتایج ما نیز کاهش شدید فرآیند یادگیری و حافظه فضایی در گروه سوکروز- AP5 نسبت به گروه سوکروز-سالین این نتایج را تأیید می کند. در عین حال مکانیسم های دیگری نیز برای ایجاد حافظه فضایی وجود دارند که ایجاد یادگیری جزیی در گروه سوکروز- AP5 را می توان به آنها نسبت داد. به عنوان مثال نشان داده شد تجویز گلوکز به موش سفید آزمایشگاهی نر نژاد NMRI باعث تقویت حافظه در مدل ماز آبی موریس میشود. تجویز MK801 به حیوانات توام با گلوکز مانع بروز اثر افزاینده حافظه توسط گلوکز نمی شود. با توجه به این موضوع می توان تصور کرد که احتمالا گلوکز بیشتر اثر خود را از طریقی غیر از مسیر گیرنده های NMDA برحافظه اعمال می کند و در این رابطه احتمال اثر گلوکز بر سیستم کولینرژیک یا دوپامینرژیک را پیشنهاد می کنند [۲]. Roesler و همکاران نقش گیرنده های NMDA هیپوکمپ را در مدل یادگیری احترازی غیر فعال بررسی نموده و دریافتند که تجویز AP5 به داخل هیپوکمپ تا حدودی این نوع حافظه را در موش صحرایی مختل میکند. این محققین در قسمت دیگری از تحقیقات خود دریافتند حافظه در مدل احترازی غیر فعال می تواند به دو قسمت مجزا تقسیم شود. یک قسمت از آن مرتبط با کسب اطلاعات از محیط آزمایش توسط حیوان مورد مطالعه است که در این رابطه گیرنده های NMDA هیپوکمپ عمل می کنند و قسمت دیگر غیر وابسته به فعال شدن گیرنده های NMDA هیپوکمپ بوده و ناشی از تحریکی است که از کف جعبه به حیوان اعمال می شود [۲۵].

همچنین گزارش شده که LTP می تواند مکانیسم سلولی دخیل در حافظه در حیوانات بهوش و احتمالا انسان باشد. از طرف دیگر بسته به الگوی تحریک شبکه های عصبی، LTP تولید شده شامل ۲ فاز مقدماتی (E-LTP) و تاخیری (L-LTP) می باشد. E-LTP همراه با تعدیل پروتئینی بوده و L-LTP وابسته به سنتز پروتئینی می باشد. اعتقاد بر این است که خصوصا L-LTP مرتبط با حافظه طولانی مدت است. القاء L-LTP در سیناپسهای مسیر جانبی شافر به CA1 هیپوکمپ مستلزم افزایش غلظت کلسیم درون سلولی در نورون پس سیناپسی است. برای تامین کلسیم مورد نیاز، کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ نوع L فعال می شوند و لذا این نوع LTP را نوع غیر وابسته به گیرنده های NMDA می نامند. نتایج مطالعه مذکور نشان داد که پلاستیسیتی سیناپسی وابسته به کانالهای کلسیمی نوع L به موازات فرآیندهای وابسته به گیرنده های NMDA برای یادگیری فضایی در حیوان بهوش ضروری است. بطوری که بلوک فارماکولوژیکی کانالهای کلسیمی نوع L باعث تخریب یادگیری می شود. بطور خلاصه تلفیق یافته های الکتروفیزیولوژی، بیوشیمیایی و رفتاری کانالهای کلسیمی نوع L در موش سوری شواهد قوی ارائه می دهد که پلاستیسیتی سیناپسی غیر وابسته به گیرنده های NMDA در ناحیه CA1 هیپوکمپ ارتباط عملی محکمی با یادگیری و حافظه فضایی وابسته به هیپوکمپ در موش سوری دارد [۲۵]. شواهد فوق الذکر تایید کننده یافته های ما بوده و نشان میدهد که علاوه بر یادگیری فضایی وابسته به گیرنده های NMDA در ناحیه CA1 هیپوکمپ مکانیسم های دیگری نظیر کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ در ایجاد یادگیری فضایی نقش دارند و بنابراین تجویز AP5 در ناحیه CA1 نمی تواند باعث سرکوب کامل فرآیند یادگیری و حافظه فضایی شود.

همچنین بخش دیگری از نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ایجاد وابستگی به مرفین به روش تجویز خوراکی در گروه مرفین – سالین سبب تقویت یادگیری و حافظه در این گروه شد بطوری که در روزهای آموزش سبب کاهش معنی داری درمیانگین زمان پیدا کردن سکوی پنهان ومسافت طی شده برای یافتن آن در مقایسه با گروه سوکروز- سالین شد، همچنین در روز پنجم (probe -trial) حیوانات زمان بیشتری را در ربع دایره هدف نسبت به تمام گروههای آزمایش سپری کردند هر چند که این افزایش زمان از لحاظ آماری معنی دار نبود. مطالعات مختلف نشان دهنده اثرات متضاد تجویز مرفین در فرآیند حافظه و یادگیری است. بطور مثال نتایج مطالعه قبلی ما نشان داد که ایجاد وابستگی خوراکی به مرفین باعث تقویت فرآیند یادگیری وحافظه فضایی موشهای صحرایی در ماز آبی موریس می شود [۱]. همچنین در مطالعه دیگر تجویز مرفین خوراکی در موشهای صحرایی منجر به ایجاد وابستگی شد، سپس مغز این موشها برش داده شد، بررسی های الکتروفیزیولوژیک این برشها نشان دهنده القاء LTP افزایش یافته در ناحیه CA1 هیپوکمپ می باشد، که این LTP به طور کامل با تجویز D,L-AP5 از بین می رود [۲۲]. یافته هایی هم نشان می دهد که اپیوئیدها در روند شکل پذیری سیناپسی شبکه نورون هیپوکمپ اثر مثبت دارند [۳۰]. گزارشات فوق با یافته این مطالعه مبنی بر اثرمثبت وابستگی به مرفین با روش خوراکی بر روند یادگیری همخوانی دارد. اما در تحقیقات دیگری نشان داده شده که تجویز مرفین فاقد هر گونه اثر و یا دارای اثر تخریبی بر فرآیندهای یادگیری و حافظه فضایی می باشد. برای مثال گزارش نموده اندکه تجویز مزمن مرفین وایجاد سندرم ترک مرفین اثرات معکوسی درعملکرد موشهای صحرایی در ماز رادیال و Ymaze دارد، بطوری که تجویز مرفین در ماز رادیال باعث تخریب روند یادگیری شده و ورود حیوانات به مرحله سندروم ترک باعث بهبود روند مذکور می گردد. در Ymaze نیز مرفین اثر مشابهی ایجاد نمود [۲۷]. نتایج یک پژوهش نشان می دهد تزریق مرفین باعث تخریب

دقت یادگیری نمی شود اما با کاهش انگیزه موجب تخریب یادگیری مکانی می شود [۱۵]. بنابراین به نظر می رسد نوع تجویز مرفین و دوز آن، ثبوت و یا عدم ثبوت دوز مصرفی و همچنین روشهای سنجش حافظه و یادگیری در ایجاد نتایج متناقض موثر باشد[۹].

از طرف دیگر نتایج قسمتی دیگر از تحقیق حاضر نشان داد که مهار گیرنده های NMDA در ناحیه CA1 هیپوکمپ توسط AP5، اثرات وابستگی به مرفین بر فرآیند یادگیری وحافظه فضایی را از بین می برد. بطوری که زمان و مسافت طی شده برای رسیدن به سکو در گروه مرفین- AP5 نسبت به گروه مرفین - سالین درتمام روزهای آموزش بطور معنی داری بیشتر است. همچنین مدت زمان سپری شده توسط حیوانات در ربع دایره هدف درروز probe trial نیز در گروه مرفین- AP5 نسبت به گروه مرفین - سالین کاهش نشان می دهد هرچند که این کاهش از لحاظ آماری معنی دار نیست. در این رابطه قبلا برخی محققین تداخل عمل سیستم اپیوئیدی و گلوتاماترژیک را در فعالیت حرکتی و اثرات ضد دردی بررسی نموده اند [۷] همچنین نشان داده شده که گیرنده های اپیوئیدی و گیرنده های NMDA در پیشرفت فرآیند وابستگی به مرفین با یکدیگر همکاری دارند [۱۷]. Piotr etal نشان دادند تجویز آنتاگونیست های گیرنده های NMDA باعث کاهش میزان وابستگی به مرفین می شود[۲۱]. نتایج تحقیقات فوق موید اثر گیرنده های NMDA در وساطت عمل مرفین می باشد. از سوی دیگر توجه زیادی به تداخل عمل سیستم اپیوئیدی و گیرنده های NMDA در فرآیند حافظه معطوف شده است [۷]. در همین راستا نشان داده شد که آگونیست گیرنده mu تحریک پذیری سلولهای هرمی ناحیه CA1 را در مقاطع زنده هیپوکمپ افزایش می دهد. نتایج این تحقیق نشان داده که اپیوئیدها از طریق مهار اینترنرونهای مهاری GABAergic باعث تحریک سلولهای هرمی ناحیهCA1 می شوند، به بیان دقیق تر اپیوئیدها به طور غیر مستقیم غشاء سلولهای هرمی این ناحیه را دپلاریزه نموده ومتعاقب آن مهار منیزیمی کانال NMDA برطرف گردیده و حساسیت آن افزایش می یابد. فعال شدن گیرنده مذکور برای القای LTP ضروری می باشد [۲۹]. Madison و همکارانش [۱۶] نشان دادند که افزایش تحریک پذیری سلولهای هرمی تحت تاثیر انکفالین، با واسطه مهاری است که توسط انکفالین بر سلولهای مهاری اعمال می شود و در نتیجه دپلاریزاسیون سلولهای هرمی منجر به افزایش فعالیت گیرنده های NMDA می شود.

همچنین نشان داده شده که تجویز مرفین خوراکی به موشهای صحرایی منجر به ایجاد وابستگی به مرفین می شود. سپس از مغز این موشها برشهای هیپوکمپ تهیه گردید. بررسی الکتروفیزیولوژیک این برشها نشان دهنده القاء LTP افزایش یافته از نوع پتانسیلهای نیزه ای دسته جمعی در حضورتحریکات الکتریکی با فرکانس ۱۰۰ هرتز در ناحیه CA1 هیپوکمپ می باشد، که این LTP به طور کامل با تجویز-D,L AP5 از بین می رود [۲۲]. در مطالعات دیگری Cestari و همکاران [۸] با استفاده از دو نژاد C57BL/6(C57) و DBA/2(DBA) موش سوری که در توزیع گیرنده های اپیوئیدی در نواحی مختلف مغزی با یکدیگر متفاوت می باشند اثر تجویز مرفین و MK-801 را در مدل یادگیری احترازی غیر فعال بررسی نموده و گزارش نمودند که تجویز هر دو دارو بصورت post training باعث بهبود وابسته به زمان و وابسته به دوز حافظه موشهای نژاد C57 می شود. این اثرات در موشهای نژاد DBA کاملا معکوس است. بنابر این پیشنهاد می گردد تداخل عمل بین گیرنده های NMDA، مرفین و گیرنده های اپیوئیدی در فرآیند حافظه وجود دارد این تداخل عمل بر حسب ساختار ژنتیکی حیوان مورد مطالعه متفاوت است. از نتایج تحقیقات فوق می توان نتیجه گرفت که احتمالا وابستگی به مرفین با تحریک گیرنده های اپیوئیدی باعث مهار اینترنورونهای مهاری و در نتیجه رفع مهار سلولهای هرمی ناحیه CA1 و در نتیجه دپلاریزاسیون این سلولها شده که متعاقب آن رفع مهار منیزیمی باعث افزایش فعالیت گیرنده های NMDA در سلولهای مذکور می گردد. لذا در تحقیق حاضر با بلوک گیرنده های NMDA توسط D,L- AP5 عملا اثر تقویتی وابستگی به مرفین در تقویت روند یادگیری و حافظه فضایی مهار می شود.

همچنین قسمت دیگری از نتایج تحقیق حاضر نشان می دهد سرعت شنای حیوانات در بین گروههای آزمایش تفاوت معنی داری ندارد. چنین استنباط می شود که تجویز مرفین و یا AP5 در این آزمایش تاثیری بر سیستم های حرکتی حیوان نداشته و یا تخریب و بهبود ناشی از آنها مربوط به اثر در روند هایی است که طی آنها یادگیری فضایی اتفاق می افتد.

بطور کلی این تحقیق نشان می دهد وابستگی خوراکی به مرفین اثر تقویتی بر فرآیندهای یادگیری و حافظه فضایی دارد و این اثر تا حد زیادی از طریق گیرنده های NMDA موجود در ناحیه CA1 هیپوکمپ اعمال می شود.

## تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل قسمتی از طرح تحقیقاتی شماره ۸۴۰۰۵، مصوب حوزه آموزشی و پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه می باشد. نویسندگان این مقاله بدین وسیله مراتب تقدیر و تشکر خود را از حمایتهای مسئولین محترم حوزه مذکور اعلام می نمایند.

## منابع

[۱] پورمتعبد علی، طهماسیان مسعود، شاهی مریم، کرمی دارابخانی حسین، فتح الهی یعقوب، اثر وابستگی به مرفین بر یادگیری و حافظه فضایی در موش صحرایی نر. **فیزیولوژی و فارماکولوژی** ۹ (۱۳۸۴) ۷۹ تا ۸۹.

[۲] معاضدی احمد علی، ابراهیمی سهیلا، پیرزاد چینی پرداز رحیم، بررسی اثرات گلوکز بر فراموشی حاصل از مصرف MK ۱۰۸ در موش سفید آزمایشگاهی نر. **فیزیولوژی و فارماکولوژی** ۶ (۱۳۸۱) ۱۸۳ تا ۱۸۹.

maintenance of long-term potentiatin in rat hippocampal slices. ***Neurosci Lett***187 (1991) 122 -19.

[15] Kikusui T, Tonohiro T, Kaneko T, Simultaneous evaluation of spatial working memory and motivation by the allocentric place discrimination task in the water maze in rats. ***J Vet Med Sci*** 61 (1999) 673-681.

[16] Madison DV, Nicoll RA, Norepinephrine decreases synaptic inhibition in the rat hippocampus. ***J Physiol*** 398 (1988) 123-130.

[17] Makimura M, Sugimoto H, Shinomiya K, Kabasawa Y, Fukuda H, Inhibitory effect of NMDA receptor antagonist, dizocilpine (MK-801), on the development of morphine dependence. ***J Toxicol Sci*** 21 (1996) 135-141.

[18] McNamara RK, Skelton RW, The neuropharmacological and neurochemical basis of place learning in the Morris water maze. ***Brain Res Rev*** 18 (1993) 33-49.

[19] Moosmang S, Haider N, Klugbauer N, Adelsberger H, Langwieser N, Muller J, Stiess M, Marais E, Schulla V, Lacinova L, Goebbels S, Nave KA, Storm DR, Hofmann F, Kleppisch T, Role of hippocampal Cav1.2 $Ca^{2+}$ channels in NMDA receptor-independent synaptic plasticity and spatial memory ***J Neurosci*** 26;25 (43) (2005) 9883-9892.

[20] Paxinos G, Watson C, ***The rat brain in stereotaxic coordinates***. New York: Academic Press, (1986).

[21] Piotr P, Wojciech D, Inhibition of Reinforcing Effect of Morphine and Motivation Aspect of Naloxon-Precipitated Opioid Withdrawal by N-Methyl-D-aspartate Receptor Antagonist, Memantine. ***J Pharmacol Exp Ther*** 280 (1997) 854-865.

[22] Pourmotabbed A, Motamedi F, Fathollahi Y, Mansouri FA, Semnanian S, Involvement of NMDA receptors and voltage- dependent calcium channels on augmentation of long-term potentiation in hippocampal CA1 area of morphine dependent rats. ***Brain Res*** 804 (1998) 125-134.

[23] Pu L, Bao 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. ***J Neurosci*** 22 (2002) 1914 – 1921.

[24] Roesler R, Schroder N, Vianna MR, Quevedo J,

[3] Ali BH, Sharif EA, Sex differences and the effect of gonadectomy on morphine-induced antinoception and dependence in rats and mice. ***Clin Exp Pharmacol Physiol*** 22 (1995) 342-344.

[4] Badawy AA, Evans CM, Evans M, Production of tolerance and physical dependence in the rat by simple administration of morphine in drinking water. ***Br J Pharmacol*** 75 (1982) 485-491.

[5] Baker KB, Kim JJ, Effects of stress and hippocampal NMDA receptor antagonism on recognition memory in rats. ***Learn Mem*** 9 (2002) 58-65.

[6] Bliss TVP, Callingridge GL, Synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. ***Nature*** 361 (1993) 31-39.

[7] Castellano C, Cestari V, Ciamei A, NMDA receptors and learning and memory processes, Curr Drug Targets 2 (2001) 273-283.

[8] Cestari V, Ciamei A, Castellano C, Strain-dependent effects of MK-801 on passive avoidance behaviour in mice: interactions with morphine and immobilization stress. ***Psychopharmacology (Berl)*** 146 (1999) 144-152.

[9] Classen W, Mondadori C, Facilitation or inhibition of memory by morphine: a question of experimental parameters. ***Experiental*** 40 (1984) 506-509.

[10] Craf R, Heidemen L, Bartok R, Effect of gonadectomy on discriminative stimulus effects of morphine in female versus male rats. ***Drug Alcohol Dependency*** 53 (1988) 95-109.

[11] Derrick BE, Rodrigues SB, Martinez JL, Opioid receptor-dependent long-term potentiation at the lateral perforant path-CA3 synapse in rat hippocampus. ***Brain Res Bull*** 33 (1994) 17-24.

[12] Fan GH, Wang LZ, Qiu HC, Ma L, Pei G, Inhibition of calcium/calmodulin-dependent protein kinase II in rat hippocampus attenuates morphine tolerance and dependence. ***Mol Pharmacol*** 56 (1999) 39-45.

[13] Grover LM, Teyler TJ, Tow components of long –term potentiation induced by different patterns of afferent activation. ***Nature*** 347 (1990) 477-479.

[14] Izumi Y, Clifford DB, Zorumski Cf, 2-Amino-3phosphonopropionate blocks the induction and

Bromberg E, Kapczinski F, Ferreira MB, Differential involvement of hippocampal and amygdalar NMDA receptors in contextual and aversive aspects of inhibitory avoidance memory in rats. ***Brain Res*** 975 (2003) 207-213.

[25] Roesler R, Vianna M, Sant' Anna MK, Kuyven CR, Kruel AV, Quevedo J, Ferreira MB, Intrahippocampal infusion of the NMDA receptor antagonist AP5 impairs retention of an inhibitory avoidance task: protection from impairment by pretraining or preexposure to the task apparatus. ***Neurobiol Learn Mem*** 69 (1998) 87-91.

[26] Shiflett MW, Tomaszycki ML, Rankin AZ, DeVoogd TJ, Long-term memory for spatial locations in a food-storing bird (Poecile atricapilla) requires activation of NMDA receptors in the hippocampal formation during learning. ***Behav Neurosci*** 118 (2004) 121-130.

[27] Spain JW, Newsom GC, Chronic opioid impair acquisition of both radial maze and Y-maze choice escape. ***Psychopharmacol (Berl)*** 105 (1991) 101-106.

[28] Steele RJ, Morris RG, Delay-dependent impairment of a matching-to-place task with chronic and intrahippocampal infusion of the NMDA-antagonist D-AP5. ***Hippocampus*** 9 (1999) 118-136.

[29] Wimpey TL, Opheim KE, Chavkin C, Effects of chronic morphine administration on the Mu and Delta opioid response in the CA1 region of the rat hippocampus. ***J Pharmacol Exp Ther*** 251 (1989) 405-411.

[30] Xie CW, Lewis DV, Endogenous opioids regulate long-term potentiation of synaptic inhibition in the dentate gyrus of rat hippocampus. ***J Neurosci*** 15 (1995) 3788-3795.

[31] Yoshihara T, Ichitani Y, Hippocampal N-methyl-D-aspartate receptor-mediated encoding and retrieval processes in spatial working memory: delay-interposed radial maze performance in rats. ***Neuroscience*** 129 (2004) 1-10.

متن کامل این مقاله از طریق وب سایت مجله قابل دسترسی است www.phypha.ir/ppj