

## Evaluating Effects of Maternal Separation on Morphine-dependency and Spatial Learning and Memory of Rats

Hamidi Gh.A.<sup>1</sup> *PhD*, Salami M.<sup>1</sup> *PhD*, Talaei S.A.\* *PhD*

\* Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran.

<sup>1</sup> Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran.

### Abstract

**Aims:** Facing maternal separation during early postnatal life leads to disturbances in the cognitive and neuro-chemical activities of the brain. The aim of this study was to investigate the effects of maternal separation on spatial learning and memory of morphine-dependent rats.

**Materials and Methods:** This experimental study was carried out on 40 male Wistar rats of 45 days old. Animals were divided into control group (CO), morphine dependent (MD) and 3 group of rats which maternally separated during 1 (MS1), 2 (MS2) and 3 weeks (MS3) after birth. Except CO rats, the other groups were subcutaneously injected 10 mg/kg morphine every 12 hours for 10 days. At the 11th day signs of withdrawal syndrome were evaluated and during next 4 consecutive days spatial learning was evaluated by Morris water maze (MWM). The rats' spatial memory retrieval was also estimated at the last day.

**Findings:** Although morphine dependence did not affects spatial learning and memory of rats, but 3 weeks maternal separation caused the animals spend more time and travel more distance to find the hidden platform than to CO group ( $P < 0.001$  for both of comparisons). Also, they spent less time and passed less distance in the target quadrant in probe trial ( $P < 0.001$  for both of comparisons).

**Conclusion:** In conclusion, maternal separation impairs spatial learning and memory of rats.

### Keywords:

Maternal deprivation (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68008426>)

Morphine (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68009020>)

Maze learning (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68018782>)

Spatial memory (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68065852>)

Rats (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68051381>)

---

\*Corresponding Author: Sayyed Alireza Talaei

Tel: 0098 913 362 3240

Fax: 0098 31 5562 1157

Address: Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

E-mail: talaei@kaums.ac.ir

Received: 24 Feb 2018

Accepted: 22 Sep 2018

ePublished: 10 Oct 2018

Factor) و زیرواحدهای NR2A و NR2B گیرنده NMDA در ناحیه هیپوکامپ می‌شود<sup>[5]</sup>.

محرومیت از تیمار مادری باعث افزایش فعالیت محور HPA و تولید کورتیزول در فرزندان شده که نتیجه آن افزایش رفتارهای پرخطر است<sup>[6]</sup>. همچنین، مواجه شدن با عوامل استرس‌زا در ابتدای تولد باعث ایجاد تغییرات در فعالیت سیستم دوپامینی ناحیه مزولیمبیک مغز شده که خود می‌تواند تمایل به مواد مخدر را تغییر دهد<sup>[7]</sup>. اعتیاد به مشتقات اپیوئیدی یک معضل همه‌گیر در جوامع امروزی است. مصرف مکرر این مواد فعالیت مدارهای نورونی و شکل‌پذیری آنها در نواحی مختلف سیستم عصبی را دست‌خوش تغییر قرار می‌دهد<sup>[8]</sup>. قاعدتاً مواجه شدن دستگاه عصبی که هنوز در حال شکل‌گیری بوده و بالغ نشده است با این مواد می‌تواند تأثیرات عمیق‌تر و گسترده‌تری برجای بگذارد<sup>[9,10]</sup>. اگرچه داروهای اپیوئیدی به‌صورت بالینی به‌عنوان عوامل ضد درد مورد استفاده واقع می‌شوند، اما به شدت اعتیادآور بوده و مصرف مکرر آنها فعالیت مدارهای نورونی در نواحی مختلف سیستم عصبی از جمله ناحیه هیپوکامپ را دست‌خوش تغییر قرار می‌دهد<sup>[8]</sup>.

تعدیل فرآیندهای یادگیری و حافظه توسط مورفین و سایر اپیوئیدها در مطالعات متعددی بررسی شده و نتایج ضد و نقیضی به دست داده است؛ درحالی‌که نتایج بخشی از مطالعات حاکی از اثر تخریب‌کننده مصرف مورفین چه به صورت حاد<sup>[11]</sup> و چه مزمن<sup>[12]</sup>، بر یادگیری و حافظه فضایی است، برخی دیگر از بی‌تأثیر بودن مصرف مورفین بر یادگیری فضایی<sup>[13]</sup> و حتی از تأثیر مثبت مصرف مورفین بر یادگیری و حافظه فضایی<sup>[14]</sup> صحبت کرده‌اند. نشان داده شده است که مصرف مزمن مورفین (دو هفته) باعث کاهش بیان ژن‌های MAPK و CamKII درگیر در شکل‌پذیری سیناپسی - در ناحیه هیپوکامپ موش می‌شود<sup>[15]</sup>.

باتوجه به اینکه محرومیت از تیمار مادری می‌تواند با تغییر در فعالیت محور HPA بر بلوغ و فعالیت مدارهای نواحی مختلف مغزی تأثیر بگذارد و از طرف دیگر نشان داده شده است که مصرف مواد مخدر نیز می‌تواند بر فعالیت نوروئیدهای ناحیه هیپوکامپ و در نتیجه یادگیری و حافظه پستانداران تأثیر بگذارد، هدف از مطالعه حاضر بررسی تأثیر محرومیت از تیمار مادری بر یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرائی وابسته به مورفین بود.

#### مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی بر روی ۴۰ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار ۴۵ روزه در محدوده وزنی ۱۲۰ تا ۱۴۰ گرم انجام شد. حیوانات در مرکز پرورش حیوانات دانشگاه علوم پزشکی کاشان با دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد، رطوبت  $50 \pm 5$  درصد و سیکل روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند؛ ساعت شروع روشنایی ۷ صبح بود. اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مطابق با دستورالعمل‌های کمیته اخلاق معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان رعایت گردیدند. موش‌های صحرائی به‌صورت تصادفی در ۵ گروه ۸ تایی به شرح ذیل

## بررسی تأثیر محرومیت از تیمار مادری بر وابستگی به مورفین و یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرائی

غلامعلی حمیدی PhD

مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران.

محمود سلامی PhD

مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران.

سید علیرضا طلائی \* PhD

مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران.

#### چکیده

اهداف: مواجه شدن با محرومیت از تیمار مادری در ابتدای زندگی منجر به ایجاد اختلال در فعالیت‌های شناختی و نوروشیمیایی مغز می‌شود. هدف مطالعه حاضر بررسی تأثیر محرومیت از تیمار مادری بر یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرائی وابسته به مورفین بوده است.

مواد و روش‌ها: مطالعه تجربی حاضر روی ۴۰ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار ۴۵ روزه در گروه‌های کنترل (CO)، وابسته به مورفین (MD) و ۳ گروه از موش‌هایی که طی یک (MS1)، دو (MS2) و سه (MS3) هفته اول پس از تولد روزانه ۳ ساعت از تیمار مادری محروم بودند، انجام شد. به‌جز گروه کنترل بقیه گروه‌ها هر ۱۲ ساعت یک‌بار ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن مورفین سولفات به‌صورت زیرپوستی به‌مدت ۱۰ روز دریافت کردند. در روز یازدهم علائم سندروم محرومیت بررسی شد و طی ۴ روز بعد یادگیری فضایی در ماز آبی مورفین سنجیده شد. روز آخر نیز حافظه فضایی بررسی گردید.

یافته‌ها: اگرچه وابستگی به مورفین بر یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرائی تأثیری نداشت، اما محرومیت از تیمار مادری به مدت ۳ هفته باعث شد حیوانات به‌منظور یافتن سکوی پنهان زمان و مسافت بیشتری را در مقایسه با گروه CO صرف کنند ( $p < 0.001$  برای هردو مقایسه). همچنین، باعث شد موش‌های صحرائی زمان کمتر و مسافت کمتری را در ربع هدف در مرحله بازخوانی حافظه بگذرانند ( $p < 0.001$  برای هردو مقایسه).

نتیجه‌گیری: در مجموع می‌توان گفت محرومیت از تیمار مادری باعث ایجاد اختلال در یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرائی می‌شود. کلیدواژه‌ها: محرومیت از تیمار مادری، مورفین، یادگیری ماز، حافظه فضایی، موش صحرائی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۲/۰۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۶/۳۱

\*نویسنده مسئول: talaei@kaums.ac.ir

#### مقدمه

یکی از عوامل استرس‌زا که ممکن است فرزندان در ابتدای زندگی با آن مواجه شده و منجر به ایجاد اختلال در فعالیت‌های شناختی و نوروشیمیایی مغز می‌شود، محرومیت از تیمار مادری است<sup>[1]</sup>. دلاوری و همکاران نشان داده‌اند که محرومیت از تیمار مادری اگرچه باعث کاهش یادگیری فضایی در فرزندان موش‌های صحرائی می‌شود، اما بر تثبیت حافظه فضایی بی‌تأثیر است<sup>[2]</sup>. از طرف دیگر لمن و همکارانش بیان کرده‌اند که محرومیت از تیمار مادری باعث تقویت یادگیری فضایی می‌شود<sup>[3]</sup>. نقش هیپوکامپ در روندهای شکل‌گیری حافظه کلیدی است و برای مراحل اولیه یادگیری به کارکرد آن نیاز حتمی وجود دارد<sup>[4]</sup>. محرومیت از مادری باعث کاهش بیان پروتئین BDNF (Brain-derived Neurotrophic

محقق حیوان را به آرامی به سکو هدایت می‌کرد تا اینکه موش سکو را بباید. سپس موش از سکو برداشته شده و بعد از خشک شدن با یک حوله به قفس خود برگردانده می‌شد. پس از ۱۰ دقیقه آزمایش مجدداً تکرار می‌گردید؛ با این تفاوت که محل رهاشدن موش در ماز نسبت به مرحله قبل متفاوت بود. هر موش در هر روز ۴ آزمایش را با فواصل ۱۰ دقیقه‌ای تجربه می‌کرد. با ادامه جلسات آزمایش مسافت پیموده شده و مدت زمان صرف شده به وسیله موش برای یافتن سکو کوتاه‌تر می‌شد. تعداد جلسات در این مرحله ۱۶ جلسه بود که طی ۴ روز متوالی انجام گردید. بعد از تکمیل این مرحله، مرحله بازخوانی یا پروب (Probe trial) انجام می‌شد؛ بدین ترتیب که سکو از ماز برداشته شده و حیوان به صورت تصادفی از یکی از ربع‌های ماز به داخل آن رها می‌گردید. به حیوان اجازه داده می‌شد تا به مدت ۳۰ ثانیه درون ماز شنا نموده و در نهایت موش از ماز خارج می‌شود. اگر یادگیری حیوان تثبیت شده باشد، قاعدتاً باید زمان بیشتری را در ربع محل قرارگیری سکو در مرحله قبل بگذراند. بنابراین مسافت پیموده شده و زمان سپری شده در ربع محل قرارگیری سکو در مرحله قبل به عنوان فاکتورهای نشان دهنده تثبیت حافظه در نظر گرفته می‌شوند [20]. داده‌های حاصل به صورت  $Mean \pm SEM$  بیان گردیده‌اند. داده‌های مربوط به مرحله یادگیری با استفاده از آزمون Repeated measure ANOVA و بقیه داده‌ها با استفاده از آزمون ANOVA یک طرفه به همراه پس‌آزمون Bonferroni آنالیز شده و  $p > 0.05$  معنی‌دار تلقی گردید.

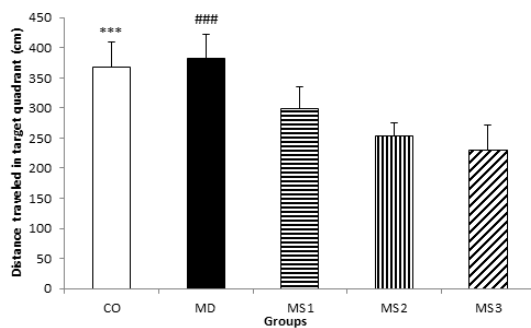
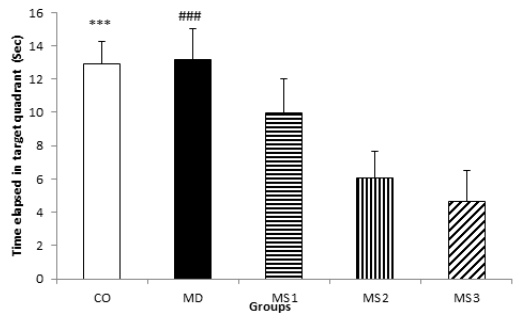
#### یافته‌ها

مطالعه حاضر به منظور بررسی تاثیر دوره‌های مختلف محرومیت از تیمار مادری بر وابستگی به مورفین و نیز شیردهی بر یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرایی نر طراحی و اجرا شد. پس از دریافت مورفین با دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روزانه دو بار به مدت ۱۰ روز و بررسی علائم محرومیت بر اساس مدل تعدیل شده Gellert-Holtzman مشخص شد که دریافت مورفین توسط موش‌های صحرایی باعث وابستگی آنها شده و علائم سندروم محرومیت از مورفین را نشان می‌دهند. نتایج آزمون آنالیز واریانس نشان داد که اختلاف بین گروه‌های مختلف مطالعه برای نمره Gellert-Holtzman معنی‌دار است ( $p < 0.001$ ). رابطه شدت علائم سندروم محرومیت با میزان محرومیت از تیمار مادری ارتباط مستقیم داشت، یعنی نمره Gellert-Holtzman در موش‌هایی که از تیمار مادری طبیعی طی دوران شیردهی برخوردار بوده و در بلوغ مورفین دریافت کرده بودند،  $16/4 \pm 98/16$  بود و محرومیت از تیمار مادری به صورت وابسته به زمان باعث افزایش میانگین نمره تا  $31/79 \pm 5/12$  در موش‌های گروه MS3 شد. پس‌آزمون نشان داد اختلاف بین گروه‌های MS2 و MS3 با MD معنی‌دار است ( $p < 0.001$ ، نمودار شماره ۱).

فاکتورهای زمان سپری شده و مسافت پیموده شده در ماز برای یافتن سکو پنهان به عنوان ملاک‌های یادگیری فضایی حیوانات در نظر گرفته می‌شوند. نتایج آزمون آنالیز واریانس با

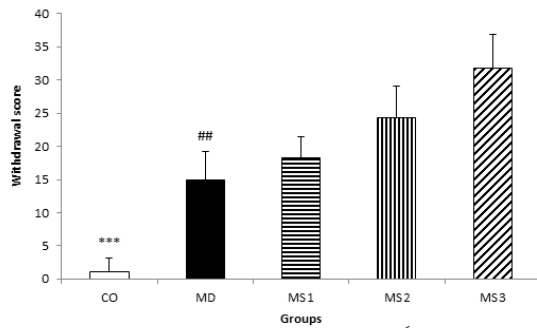
وارد شدند: گروه کنترل (CO)، و گروه‌های وابسته به مورفین (Morphine Dependent; MD)، و محرومیت از تیمار مادری برای مدت‌های ۱ هفته (Maternal Separation; MS1)، ۲ هفته (MS2) و ۳ هفته پس از تولد (MS3). مدل محرومیت از تیمار مادری [2] بدین صورت بود که هر روز رأس ساعت ۱۰ موش مادر از قفس خارج شده و ساعت ۱۳ به قفس برگردانده می‌شد و در این فاصله قفس نوزادان در یک محفظه با دمای ۳۵ تا ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گرفت. کلیه حیوانات روز بیست و دوم پس از تولد از شیر گرفته شدند. پس از رسیدن به سن ۴۵ روزه‌گی که براساس گزارش بسیاری از مطالعات مغز موش‌های صحرایی بالغ می‌شود [16,17]، همه حیوانات به غیر از گروه کنترل، به مدت ۱۰ روز هر ۱۲ ساعت یکبار، ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن مورفین سولفات (تماد، ایران) به صورت زیر پوستی دریافت کردند و در روز دهم علائم سندروم محرومیت از مورفین در آن‌ها بدین صورت بررسی شد: ۲ ساعت پس از دریافت مورفین، ابتدا ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم نالوکسان هیدروکلراید (تولید دارو، ایران) به صورت درون صفاقی به حیوانات تزریق شده و بلافاصله به یک محفظه پلکسی‌گلاس به قطر ۳۰ و ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر منتقل شدند. علائم محرومیت براساس مدل تعدیل شده Gellert-Holtzman [18] به مدت ۳۰ دقیقه بررسی شده و امتیازدهی شدند. به‌طور خلاصه این علائم عبارتند از: الف- علائم درجه‌بندی شده (از دست دادن وزن طی ۲۴ ساعت پس از تزریق، تعداد پرش، انقباضات شکمی و تکان دادن بدن مثل سگ خیس)؛ ب- علائم چک شده (اسهال، دندان سائیدن، افتادگی پلک، کشیدگی تمام بدن، لیسیدن آلت تناسلی و بی‌قراری). از روز بعد یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرایی با استفاده از ماز آبی موریس به شرح زیر طی ۴ شب متوالی بررسی شد [19]: ماز آبی موریس (Morris water maze) برای تحقیق در جنبه‌های خاصی از حافظه فضایی به‌طور گسترده‌ای مورد استفاده واقع شده است. این ماز یک تانک آب با قطر ۱۵۰ و عمق ۷۰ سانتی‌متر است که تا ارتفاع ۵۰ سانتی‌متری از آب پر می‌شود. ماز به چهار قسمت مساوی فرضی تقسیم می‌شود و یک سکوی نجات در یکی از چهار قسمت فرضی قرار می‌گیرد؛ به طوری که بین ۱ تا ۲ سانتی‌متر زیر سطح آب واقع می‌شود و از بیرون قابل دیدن نیست. ماز در اتاقی قرار می‌گیرد که در آن علائم فضایی مختلفی که در طول آزمایشات ثابت بوده و برای حیوان در ماز قابل دیدن باشد، وجود دارد. رفتار حیوان در ماز از طریق دوربین مونتور شده و توسط نرم‌افزار "ردیاب و پایش ۱/۷" آنالیز می‌شود. مرحله یادگیری یا آموزش (Acquisition) بدین ترتیب انجام می‌گردد: حیوان از یکی از سمت‌های چهارگانه فرضی درحالی‌که روی آن به طرف دیواره ماز است در آب رها می‌شد و اجازه داده می‌شد تا حداکثر ۶۰ ثانیه در ماز شنا کند. موش پس از رها شدن در آب شروع به شنا می‌کند. اگر حیوان به‌طور اتفاقی سکوی نجات مخفی در زیر آب را پیدا می‌کرد، اجازه داده می‌شد تا برای ۱۵ ثانیه روی سکو بماند و با جستجوی اطراف موقعیت خود را شناسایی کند. اگر در مدت ۶۰ ثانیه موش نمی‌توانست سکوی نجات را پیدا کند،

موش‌های صحرایی به مورفین تأثیری بر زمان سپری شده و مسافت پیموده شده در ماز برای یافتن سکوی پنهان در مقایسه با گروه CO ندارد ( $p > 0.05$ ) برای هر دو مقایسه، همچنین، با مشاهده نمودار شماره ۲ می‌توان دریافت که محرومیت از تیمار مادری برای مدت ۳ هفته باعث شده است فرزندان نر موش‌های صحرایی زمان بیشتر و مسافت طولانی‌تری را صرف یافتن سکوی پنهان در ماز نمایند (مقایسه بین CO و MS3؛  $p < 0.01$ ). پس از بررسی داده‌های مربوط به مرحله پروب با آزمون ANOVA مشخص گردید که اختلاف بین گروه‌های مختلف مطالعه برای میانگین زمان سپری شده و مسافت پیموده شده در ربع هدف معنی‌دار است ( $p < 0.001$ ). همان‌طور که در نمودار شماره ۳ نشان داده شده است مصرف مورفین باعث ایجاد تغییری در میزان تثبیت حافظه فضایی موش‌های صحرایی نمی‌شود؛ به عبارت دیگر اختلاف بین گروه‌های CO و MD برای زمان سپری شده (به ترتیب  $12/94 \pm 1/32$  و  $367/82 \pm 41/24$  ثانیه) و مسافت پیموده شده ( $39/87 \pm 3/15$  و  $39/87 \pm 3/15$  سانتی‌متر) در ربع هدف معنی‌دار نیست ( $p < 0.05$ ) برای هر دو مقایسه. محرومیت از تیمار مادری در دوره شیردهی به‌صورت وابسته به زمان باعث شد از



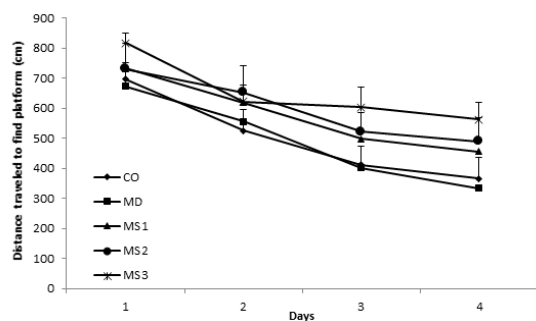
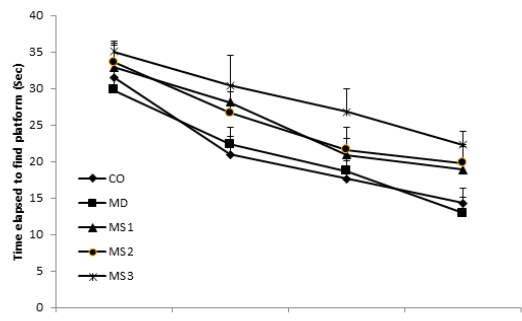
نمودار شماره ۳) میانگین انحراف استاندارد زمان سپری شده (بالا) و مسافت پیموده شده (پائین) در ربع ماز (ربعی که قبلاً محل سکوی پنهان بوده است) توسط حیوانات گروه‌های مختلف آزمایش. اگرچه مصرف مورفین باعث ایجاد تغییری در تثبیت حافظه فضایی موش‌های صحرایی نشده، اما محرومیت از تیمار مادری به‌صورت وابسته به زمان باعث شد موش‌های صحرایی زمان و مسافت کمتری را در ربع هدف ماز بگذرانند. داده‌ها با استفاده از آزمون ANOVA یک طرفه آنالیز شده‌اند.

\*\*\* $p < 0.001$  برای مقایسه بین میانگین زمان سپری شده و مسافت پیموده شده در ربع هدف توسط حیوانات گروه CO و گروه‌های MS2 و MS3  
 ## $p < 0.01$  برای مقایسه بین میانگین زمان سپری شده و مسافت پیموده شده در ربع هدف توسط حیوانات گروه MD و گروه‌های MS2 و MS3



نمودار شماره ۱) میانگین انحراف استاندارد نمره علائم سندروم محرومیت از مورفین بر اساس روش تعدیل شده Gellert-Holtzman در گروه‌های مختلف مطالعه. داده‌ها با استفاده از آزمون ANOVA یک طرفه آنالیز شده‌اند.  
 \*\*\* $p > 0.001$  برای مقایسه گروه‌های دریافت‌کننده مورفین با گروه CO  
 ## $p > 0.01$  برای مقایسه گروه‌های MS2 و MS3 با گروه MD

اندازه‌گیری مکرر نشان داد که طی ۴ روز مطالعه برای حیوانات همه گروه‌ها یادگیری اتفاق افتاده است ( $p < 0.001$ )؛ به عبارت دیگر همان‌گونه که در نمودار شماره ۲ نشان داده شده است با پیشرفت آزمایش طی روزهای متوالی حیوانات گروه‌های مختلف آزمایش زمان کمتر (بالا) و مسافت کمتری (پائین) را صرف یافتن سکوی پنهان در ماز می‌نموده‌اند. همچنین آنالیز آماری داده‌های مطالعه نشان داد که اختلاف بین روند یادگیری بین گروه‌های مختلف مطالعه معنی‌دار است ( $p < 0.001$ ). نتایج پس‌آزمون Bonferroni نشان داد که وابسته شدن



نمودار شماره ۲) میانگین انحراف استاندارد زمان سپری شده (بالا) و مسافت پیموده شده (پائین) در ماز جهت یافتن سکوی پنهان در ماز توسط حیوانات گروه‌های مختلف آزمایش. طی روزهای متوالی آزمایش برای حیوانات گروه‌های مختلف یادگیری اتفاق افتاده است؛ یعنی هم از زمان سپری شده و هم از مسافت پیموده شده کاسته شده است. داده‌ها با استفاده از آزمون Repeated measure ANOVA آنالیز شده‌اند.  
 $p < 0.001$  برای مقایسه بین گروه‌های CO و MS3

محرك و روانگردان شود<sup>[25]</sup>.

به دلیل ارتباط دوطرفه‌ای که بین ناحیه هیپوکامپ و مدارهای درگیر در پاداش وجود دارد، بررسی تاثیرات مورفین بر فعالیت مدارهای نورونی ناحیه هیپوکامپ و نیز رفتارهای ناشی از فعالیت این ناحیه، مثل یادگیری و تثبیت حافظه فضایی ضروری به نظر می‌رسد<sup>[26,8]</sup>. در بین گیرنده‌های اپیوئیدی، گیرنده‌های میو به فراوانی در ناحیه هیپوکامپ بیان شده<sup>[27]</sup> و درگیر بودن گیرنده‌های میو اپیوئید ناحیه هیپوکامپ در فرآیندهای حافظه و یادگیری در مطالعات زیادی نشان داده شده است<sup>[28-30]</sup> که نتایج آن‌ها نیز ضد و نقیض است. تعدیل فرآیندهای یادگیری و حافظه توسط مورفین و سایر اپیوئیدها در مطالعات متعددی بررسی شده و نتایج ضد و نقیضی به دست داده است؛ در حالی که نتایج بخشی از مطالعات حاکی از اثر تخریب کننده مصرف مورفین چه به صورت حاد<sup>[11]</sup> و چه مزمن<sup>[12]</sup>، بر یادگیری و حافظه فضایی است، برخی دیگر از بی‌تاثیر بودن مصرف مورفین بر یادگیری و حافظه فضایی<sup>[13]</sup> صحبت کرده‌اند. برای مثال، میلادی گرجی و همکاران نشان داده‌اند که مصرف مزمن مورفین (حداقل ۲۱ روز) هیچ تاثیری بر یادگیری فضایی موش‌های صحرایی در ماز آبی موریس ندارد<sup>[31]</sup>. با بررسی این مطالعات اولین نکته‌ای که حاصل می‌شود این است که اثرات مورفین بر یادگیری و حافظه وابسته به مدت دوره تجویز، دوز تجویز و مدل بررسی حافظه در حیوانات می‌باشد.

نشان داده شده است که محرومیت از مادری باعث کاهش بیان پروتئین BDNF (پروتئین دارای نقش اساسی در حیات و سلامت نورون‌ها) و زیرواحدهای NR2A و NR2B گیرنده NMDA در ناحیه هیپوکامپ می‌شود<sup>[5]</sup>. سوسا و همکاران بیان کرده‌اند که محرومیت از تیمار مادری طی روزهای دوم تا چهاردهم بعد از تولد باعث می‌شود سطح کورتیکوسترون پلازما در موش‌های صحرایی بالغ ۷۰ هفته‌ای به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل بوده و شکل‌پذیری سیناپسی نورن‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ دچار اختلال شود<sup>[32]</sup>. با توجه به اینکه گیرنده‌های کورتیکوستروئید و اپیوئید هر دو در ناحیه هیپوکامپ بیان می‌شوند، این احتمال می‌رود که محرومیت از تیمار مادری از طریق افزایش کورتیکوستروئید در گردش اثر تخریبی اپیوئیدها بر نورون‌های این ناحیه از مغز را تقویت نمایند.

#### نتیجه‌گیری

در مجموع می‌توان گفت محرومیت از تیمار مادری در دوره شیرخوارگی نه تنها باعث افزایش وابستگی موش‌های صحرایی به مورفین در دوران بلوغ شده که باعث کاهش یادگیری و تشکیل حافظه فضایی شده و از جمله دلایل این کاهش می‌تواند تغییر احتمالی ساختار و فعالیت مدارهای نورونی ناحیه هیپوکامپ و نیز تغییر در ساختار و عملکرد نوروترانسمیترها و گیرنده‌های آنها در این ناحیه از مغز آنها و سایر نواحی درگیر باشد است که البته تأیید این موارد احتیاج به بررسی بیشتر دارد.

تشکر و قدردانی: از کلیه عزیزانی که در انجام این طرح ما را یاری کردند، به‌خصوص خانم‌ها مژگان محمدی‌فر و فاطمه عقیقی و

زمان سپری شده و مسافت پیموده شده در ربع هدف توسط موش‌های صحرایی کاسته شود به‌طوری که این مقادیر برای حیوانات گروه MS3 به‌ترتیب به  $4/64 \pm 1/87$  ثانیه (نمودار شماره ۳ - بالا) و  $229/68 \pm 41/58$  سانتی‌متر رسید (نمودار شماره ۳ - پایین). نتایج پس‌آزمون Bonferroni حاکی از آن بود که اختلاف بین میانگین زمان سپری شده و مسافت پیموده شده در ربع هدف توسط حیوانات گروه CO و گروه‌های MS2 و MS3 معنی‌دار است ( $p < 0.001$  برای هر چهار مقایسه).

#### بحث

هدف از انجام این مطالعه بررسی تاثیر محرومیت از تیمار مادری بر یادگیری و تثبیت حافظه فضایی موش‌های صحرایی بود. یافته‌های این مطالعه نشان داد که محرومیت از تیمار مادری در دوره شیرخوارگی به‌صورت وابسته به زمان باعث می‌شود پس از مواجهه موش‌های صحرایی با مورفین در دوران بلوغ، وابستگی آنها بیشتر شود. همچنین، نتایج نشان داد که وابسته شدن موش‌های صحرایی به مورفین اگرچه به‌خودی خود تاثیری بر روند یادگیری و تثبیت حافظه فضایی ندارد، اما داشتن سابقه محرومیت از تیمار مادری بالاخص برای مدت ۳ هفته باعث می‌شود یادگیری فضایی در ماز آبی موریس به‌طور معنی‌داری دچار اختلال شده و نیز روند تثبیت حافظه فضایی موش‌های وابسته به مورفین با سابقه داشتن ۲ و ۳ هفته محرومیت از تیمار مادری نیز دچار اختلال شود.

نشان داده شده است که محرومیت از تیمار مادری، حتی برای دوره‌های کوتاه مدت<sup>[21]</sup>، چه در نمونه‌های انسانی و چه در مدل‌های حیوانی به‌عنوان یک عامل استرس‌زا محسوب شده و منجر به ایجاد اختلال در فعالیت‌های شناختی و نوروشیمیایی می‌شود<sup>[1]</sup>. برای مثال در یک مطالعه نشان داده شده است که محرومیت از تیمار مادری بین روزهای ۵ تا ۹ پس از تولد روزانه به مدت ۸ ساعت از یک طرف باعث ایجاد اختلال در یادگیری ترجیح مکان شرطی در موش‌های صحرایی بالغ شده و از طرف دیگر نورون‌زایی در ناحیه هیپوکامپ را کاهش می‌دهد<sup>[22]</sup>. نقش هیپوکامپ در فرآیندهای یادگیری و حافظه فضایی امروزه کاملاً محرز است و می‌دانیم که نوروترانسمیتر عمده مدارهای این ناحیه گلوتامات است که بخش اعظم اثرات آن از طریق گیرنده‌های NMDA به انجام می‌رسد. همچنین، می‌دانیم که دوره بحرانی تکامل مغز یک محدوده زمانی مربوط به دوران جنینی و ابتدای زندگی است<sup>[23]</sup> که در آن، علاوه بر فرآیندهای وابسته به فعالیت ژن‌ها، تجربیات حاصل از برخورد با محیط نیز نقش مهمی در شکل‌گیری ارتباطات سیناپسی دارند<sup>[24]</sup>. از طرف دیگر می‌دانیم که مواجه شدن با عوامل استرس‌زا در ابتدای تولد باعث ایجاد تغییرات در فعالیت سیستم دوپامینی ناحیه مزولیمبیک مغز شده که خود می‌تواند تمایل به مواد مخدر را تغییر دهد<sup>[7]</sup>. به‌علاوه بیان شده است که محرومیت از تیمار مادری باعث افزایش فعالیت محور HPA و تولید کورتیزول در فرزندان شده که نتیجه آن افزایش رفتارهای پرخطر است<sup>[6]</sup>. محرومیت از تیمار مادری هم‌چنین می‌تواند باعث ایجاد اختلال در سیستم‌های پاداشی مغز برای دریافت مواد

rats produces enduring changes in dopamine function. *Synapse*. 1999;32(1):37-43.

8- Nestler EJ. Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. *Nat Rev Neurosci*. 2001;2(2):119-28.

9- Fodor A, Timar J, Dora Z. Behavioral effects of perinatal opioid exposure. *Life Sci*. 2014;104:1-8.

10- Rozisky JR, Laste G, de Macedo IC, Santos VS, Krolow R, Noschang C, et al. Neonatal morphine administration leads to changes in hippocampal BDNF levels and antioxidant enzyme activity in the adult life of rats. *Neurochem Res*. 2013;38(3):494-503.

11- Farahmandfar M, Kadivar M, Naghdi N. Possible interaction of hippocampal nitric oxide and calcium/calmodulin-dependent protein kinase II on reversal of spatial memory impairment induced by morphine. *Eur J Pharmacol*. 2015;751:99-111.

12- Zarrinkalam E, Heidarianpour A, Salehi I, Ranjbar K, Komaki A. Effects of endurance, resistance, and concurrent exercise on learning and memory after morphine withdrawal in rats. *Life Sci*. 2016;157:19-24.

13- Davis CP, Franklin LM, Johnson GS, Schrott LM. Prenatal oxycodone exposure impairs spatial learning and/or memory in rats. *Behav Brain Res*. 2010;212(1):27-34.

14- Pourmotabbed A, Nedaei SE, Mehrabinasab E. 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. *Physiol Pharmacol*. 2006;10(2):115-23.

15- Zhang Y, Brownstein AJ, Buonora M, Niikura K, Ho A, Correa da Rosa J, et al. Self administration of oxycodone alters synaptic plasticity gene expression in the hippocampus differentially in male adolescent and adult mice. *Neuroscience*. 2015; 285:34-46.

16- Yang L, Pan Z, Zhou L, Lin S, Wu K. Continuously changed genes during postnatal periods in rat visual cortex. *Neurosci Lett*. 2009;462(2):162-5.

17- Calabrese E, Badea A, Watson C, Johnson GA. A quantitative magnetic resonance histology atlas of postnatal rat brain development with

آقایان سید مهدی جلالی و حسین عصار صمیمانه سپاسگزاری می‌نمایم.

تاییدیه اخلاقی: این مطالعه با کد IR.KAUMS. MEDNT.REC.1396.81 در کمیته اخلاق دانشگاه علوم

پزشکی کاشان به ثبت رسیده است.

تعارض منافع: هیچ‌گونه تعارض منافی توسط نویسندگان بیان نشده است.

سهام نویسندگان: غلامعلی حمیدی (نویسنده اول) طراحی مطالعه / مرور متون (۱۰٪)؛ محمود سلامی (نویسنده دوم) تفسیر داده‌ها / نویسنده بحث (۱۰٪)؛ سید علیرضا طلائی (نویسنده سوم) طراحی مطالعه / جمع‌آوری داده‌ها / آنالیز آماری / آماده سازی دست‌نویس (۸۰٪)

منابع مالی: هزینه انجام این مطالعه از طریق طرح تحقیقاتی شماره ۹۶۱۵۹ مصوب معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کاشان تامین گردیده است.

#### منابع

- 1- Liu D, Diorio J, Day JC, Francis DD, Meaney MJ. Maternal care, hippocampal synaptogenesis and cognitive development in rats. *Nat Neurosci*. 2000;3(8):799-806.
- 2- Dalaveri F, Nakhaee N, Esmaeilpour K, Mahani SE, Sheibani V. Effects of maternal separation on nicotine-induced conditioned place preference and subsequent learning and memory in adolescent female rats. *Neurosci Lett*. 2017;639:151-6.
- 3- Lehmann J, Pryce CR, Bettschen D, Feldon J. The maternal separation paradigm and adult emotionality and cognition in male and female Wistar rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 1999;64(4):705-15.
- 4- Bird CM, Burgess N. The hippocampus and memory: insights from spatial processing. *Nat Rev Neurosci*. 2008;9(3):182-94.
- 5- Roceri M, Hendriks W, Racagni G, Ellenbroek BA, Riva MA. Early maternal deprivation reduces the expression of BDNF and NMDA receptor subunits in rat hippocampus. *Mol Psychiatry*. 2002;7(6):609-16.
- 6- Lippmann M, Bress A, Nemeroff CB, Plotsky PM, Monteggia LM. Long-term behavioural and molecular alterations associated with maternal separation in rats. *Eur J Neurosci*. 2007;25(10):3091-8.
- 7- Hall FS, Wilkinson LS, Humby T, Robbins TW. Maternal deprivation of neonatal

- morphine-induced memory impairment in mice by withdrawal in Morris water maze: Possible involvement of cholinergic system. *Pharmacol Biochem Behav.* 2001;68(3):507-13.
- 28- Cao LQ, Wen J, Liu ZQ. Opioid  $\mu$ -receptors mediate the stress-induced spatial reference memory impairment. *Acta physiol Sin.* 2015;67(2):173-80.
- 29- Lambert NA, Harrison NL, Teyler TJ. Evidence for  $\mu$ -opiate receptors on inhibitory terminals in area CA1 of rat hippocampus. *Neurosci Lett.* 1991;124(1):101-4.
- 30- McQuiston AR, Saggau P. Mu-opioid receptors facilitate the propagation of excitatory activity in rat hippocampal area CA1 by disinhibition of all anatomical layers. *J Neurophysiol.* 2003; 90(3):1936-48.
- 31- Miladi Gorji H, Rashidy-Pour A, Fathollahi Y. Effects of morphine dependence on the performance of rats in reference and working versions of the water maze. *Physiol Behav.* 2008;93(3):622-7.
- 32- Sousa VC, Vital J, Costenla AR, Batalha VL, Sebastio AM, Ribeiro JA, et al. Maternal separation impairs long term-potential in CA1-CA3 synapses and hippocampal-dependent memory in old rats. *Neurobiol Aging.* 2014;35(7):1680-5.
- regional estimates of growth and variability. *NeuroImage.* 2013;71(Supplement C):196-206.
- 18- Miladi-Gorji H, Rashidy-Pour A, Fathollahi Y, Akhavan MM, Semnianian S, Safari M. Voluntary exercise ameliorates cognitive deficits in morphine dependent rats: the role of hippocampal brain-derived neurotrophic factor. *Neurobiol Learn Mem.* 2011;96(3):479-91.
- 19- Tamtaji OR, Taghizadeh M, Takhtfiroozeh SM, Talaei SAR. The effect of *elaegnus angustifolia* water extract on Scopolamine-Induced memory impairment in rats. *J Zanjan Univ Med Sci.* 2014;22(95):101-11. [Persian]
- 20- Arbabi E, Hamidi G, Talaei SA, Salami M. Estrogen agonist genistein differentially influences the cognitive and motor disorders in an ovariectomized animal model of Parkinsonism. *Iran J Basic Med Sci.* 2016;19(12):1285-90.
- 21- Oitzl MS, Workel JO, Fluttert M, Frosch F, De Kloet ER. Maternal deprivation affects behaviour from youth to senescence: amplification of individual differences in spatial learning and memory in senescent Brown Norway rats. *Eur J Neurosci.* 2000;12(10):3771-80.
- 22- Hays SL, McPherson RJ, Juul SE, Wallace G, Schindler AG, Chavkin C, et al. Long-term effects of neonatal stress on adult conditioned place preference (CPP) and hippocampal neurogenesis. *Behav Brain Res.* 2012;227(1):7-11.
- 23- Hensch TK. Critical period plasticity in local cortical circuits. *Nat Rev Neurosci.* 2005;6(11):877-88.
- 24- Morishita H, Hensch TK. Critical period revisited: impact on vision. *Curr Opin Neurobiol.* 2008;18(1):101-7.
- 25- Lu L, Shepard JD, Scott Hall F, Shaham Y. Effect of environmental stressors on opiate and psychostimulant reinforcement, reinstatement and discrimination in rats: a review. *Neurosci Biobehav Rev.* 2003;27(5):457-91.
- 26- Han H, Dong Z, Jia Y, Mao R, Zhou Q, Yang Y, et al. Opioid addiction and withdrawal differentially drive long-term depression of inhibitory synaptic transmission in the hippocampus. *Sci Rep.* 2015;5:9666.
- 27- Li Z, Wu CF, Pei G, Xu NJ. Reversal of