ORIGINAL ARTICLE

Effect of Morphine on Passive Avoidance Memory in Cholestatic Rats

Mahsa Poureidi[1],
Zinat Heydarnia Kalati[2],
Seyed-Hosein Abtahi-Evary[3],
Masoumeh Fani[4],
Maryam Moghimian[5]

[1] MSc in Cellular and Molecular Biology, Faculty of Medicine, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran
[2] MSc in Physiology, Faculty of Medicine, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran
[3] Associate Professor, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran
[4] Lecturer, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran
[5] Associate Professor, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran

(Received March 14, 2020 ; Accepted May 3, 2020)

Abstract

Background and purpose: Morphine as an opioid compound has different and sometimes conflicting effects on memory and learning process. Bile duct ligation causes cholestasis, which disrupts liver function. It is known that opioid systems are involved in cholestasis. The aim of this study was to investigate the possible effect of morphine on the memory of cholestatic rats.

Materials and methods: In this experimental study, the cholestatic model in male Wistar rats (weighing 200-250 g) was induced by bile duct ligation (BDL). The animals were injected with morphine (4 and 6 mg/kg, ip), naloxone (0.6 and 0.8 mg/kg, ip), and morphine and naloxone in different groups. Passive avoidance memory was evaluated on day 7 after BDL by shuttle box test. Data were analyzed by PRISM software and ANOVA.

Results: Naloxone (0.6 and 0.8 mg/kg), 30 min before the test, did not show significant changes in the memory of the cholestatic rats compared to the BDL group, whereas, morphine (4 and 6 mg/kg) showed significant increase in step-through latency ($P<0.05$). Also, naloxone (0.6 mg/kg, ip) 15 minutes before injection of morphine (6 mg/kg) showed a significant increase in acquired memory on day 7 after BDL ($P<0.0001$).

Conclusion: According to findings, morphine had a protective effect on memory impairment induced by cholestasis.

Keywords: morphine, passive avoidance memory, cholestasis

J Mazandaran Univ Med Sci 2020; 30 (186): 13-23 (Persian).

* **Corresponding Author: Maryam Moghimian-** Faculty of Medicine, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran (E-mail: moghimian.m@gmu.ac.ir)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی ام شماره 186 تیر سال 1399 (23-13)

اثر مورفین بر حافظه اجتنابی غیر فعال در موش های صحرایی کلاستاز شده

مهسا پورعیدی[1]
زینت حیدرنیا کلاتی[2]
سید حسین ابطحی ایوری[3]
معصومه فانی[4]
مریم مقیمیان[5]

چکیده

سابقه و هدف: مورفین به عنوان یک ترکیب اپیوئیدی تاثیرات مختلف و گاه متضادی بر روند حافظه و یادگیری دارد. بستن مجرای صفراوی باعث کلستاز می‌شود که عملکرد کبد را مختل می‌کند. مشخص شده است که سیستم‌های اپیوئیدی در کلستاز نیز نقش دارند. لذا هدف از این مطالعه بررسی اثر احتمالی مورفین بر حافظه موش‌های کلاستاتیک می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه‌ی تجربی، مدل کلاستاز در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار (با وزن 250-200 گرم) توسط بستن مجرای صفراوی (BDL) القا شد. مورفین (4 و 6 mg/kg ، داخل صفاقی)، نالوکسان (0/6 و 0/8 mg/kg ، داخل صفاقی) و مورفین + نالوکسان در گروه‌های مختلف به حیوانات تزریق شدند. حافظه اجتنابی غیرفعال در روز 7 بعد از BDL توسط تست شاتل باکس ارزیابی شد. نتایج توسط نرم افزار آماری PRISM و آزمون ANOVA آنالیز شدند.

یافته‌ها: تزریق نالوکسان (0/6 و 0/8 mg/kg)، 30 دقیقه قبل از آزمون، در دستیابی به حافظه موش‌های کلاستاز شده تغییر معنی‌داری نسبت به گروه BDL نشان نداد، در حالی که تزریق مورفین (4 و 6 mg/kg) در زمان تاخیر در ورود به جعبه تاریک افزایش معنی‌داری نشان داد ($P<0/05$). همچنین تزریق یک دوز نالوکسان (0/6 mg/kg ، داخل صفاقی) 15 دقیقه قبل از تزریق یک دوز مورفین (6 mg/kg) باعث افزایش معنی‌داری در حافظه اکتسابی در روزهای 7 بعد از BDL شد($P<0/0001$).

استنتاج: با توجه به داده‌ها احتمال داده می‌شود، مورفین اثرمحافظتی بر روی تخریب حافظه ناشی از کلاستاز داشته باشد.

واژه های کلیدی: مورفین، حافظه احترازی غیر فعال، کلاستاز

مقدمه

حافظه فرایندی ذهنی است که اطلاعات را ثبت، ذخیره و بازخوانی می‌کند و با توجه به افزایش شمار مبتلایان به اختلالات یادگیری وحافظه در دوران سالخوردگی، امروزه یکی از مهم‌ترین موضوعات مورد مطالعه می‌باشد(1). حافظه در معرض انواع مختلف فرایندهای پاتولوژیک ازجمله بیماری‌های نورودژنراتیو، سکته، تومورها، ترومای سر، هیپوکسی، جراحی قلب، سوءتغذیه، کمبود اختلال توجه، افسردگی، اضطراب، عوارض جانبی دارو و سالمندی می‌باشد(2). یادگیری و حافظه جزء رفتارهای پیچیده مغزی هستند که عالی‌ترین

مولف مسئول: مریم مقیمیان - گناباد: دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی E-mail: moghimian.m@gmu.ac.ir
1. کارشناسی ارشد علوم سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی،گناباد، ایران
2. کارشناسی ارشد فیزیولوژی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی، گناباد، ایران
3. دانشیار، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی، گناباد، ایران
4. مربی، گروه علوم تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی، گناباد، ایران
5. دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی، گناباد، ایران
تاریخ دریافت : 1398/12/24 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :1398/12/25 تاریخ تصویب : 1399/2/14

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

سطوح عملکردی سیستم عصبی مرکزی را شامل می‌شوند(3). مطالعاتی نشان داده‌اند که اپیوئیدها مدارهای‌مغزی درگیر در حافظه و یادگیری را تحت تاثیر قرار می‌دهند(5،4). اثرات مورفین بر حافظه توسط گیرنده‌های اوپیوئیدی و برهمکنش آن‌ها با سیستم‌های نوروترانسمیتری مو (mu) و نوروپپتیدهای مختلف مغز میانجیگری می‌شود(7،6). مورفین با اتصال به گیرنده خود در نورون پیش سیناپسی و مسدود کردن کانال کلسیم وابسته به ولتاژ، رهاسازی نوروترانسمیترهای تحریکی دخیل در فرآیندهای حافظه و یادگیری مانند گلوتامات و استیل کولین را کاهش می‌دهد این دو نوروترانسمیتر برای انتقال اطلاعات و شکل‌گیری حافظه ضروری می‌باشند(8). مورفین همچنین با افزایش تشکیل انواع مختلف رادیکال‌های آزاد، عدم تعادل سطح آنتی‌اکسیدانی و سرکوب آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در نورون‌های هیپوکمپ منجر به استرس در شبکه آندوپلاسمی، پراکسیداسیون لیپید، آسیب اکسیداسیون پروتئین، القاء آپوپتوزیس و ایجاد DNA اتوفاژی می‌شود که نتیجه آن کاهش تراکم سیناپس‌های تحریکی و افزایش تراکم سیناپس‌های مهاری است(9). در ارتباط با نقش سیستم اپیوئیدی بر روند حافظه و یادگیری، مطالعات متناقضی وجود دارد(10،11). اپیوئیدها به‌ویژه مورفین می‌توانند اثرات متفاوتی بر فرایند یادگیری و حافظه داشته باشد و اثرات مورفین وابسته به تجویز، دوز دارو و مدل بررسی حافظه در حیوانات می‌باشد(12). الگوهای رفتاری متعددی برای ارزیابی حافظه و یادگیری در حیوانات آزمایشگاهی وجود دارد(14،13). مشاهده شده است که مورفین بخاطرآوری حافظه را در روش احترازی غیرفعال تسهیل می‌کند و این اثرات به‌طورکامل توسط نالوکسان آنتاگونیزه می‌شود(15). از طرفی مشاهده شده است که تجویز مورفین موجب تخریب یادگیری احترازی فعال می‌شود که این اثر وابسته به دوز مورفین بود(16).

کبد به دلیل سنتز و متابولیسم مواد مورد نیاز بدن و همچنین غیر فعال کردن هورمون‌ها، مواد سمی و داروها نقش مهمی در هومئوستاز بدن ایفا می‌کند، به‌علاوه سلول‌های کبدی موادی مثل بیلی‌روبین حاصل از تخریب گلبول‌های قرمز پیر را به همراه مواد دیگری مثل اسیدهای صفراوی و کلسترول به داخل مجاری صفراوی ترشح کرده و از این طریق این مواد را از بدن دفع می‌کنند(17). آسیب‌های کبدی می‌توانند منجر به اختلال در ترشح صفرا شوند که این اختلال تحت عنوان کلاستاز کبدی شناخته می‌شود. در کلاستاز مواد مختلف صفرا از جمله اسیدهای صفراوی در پلاسما تجمع می‌یابند(18). مطالعات قبلی نشان داده‌اند که بروز کلاستاز می‌تواند بر بسیاری از رفتارهای ادراکی تاثیر گذاشته و موجب اختلالاتی بویژه کاهش حافظه گردد. تاکنون مکانیسم دقیق این نوع درگیری‌های عصبی شناخته نشده ولی ظاهرا باقی ماندن ترکیباتی که برای دفع، وابسته به جریان صفراوی می‌باشند مانند اسیدهای صفراوی و اندوتوکسین‌های داخلی در ایجاد علائم بالینی نقش داشته باشند(21-19). به‌علاوه در توجیه اختلات حرکتی و شناختی متعاقب انسداد مجرای صفراوی مطالعات نشان دادند که الگوی شلیک نورن‌ها در اثر تغییر در رهایش میانجی‌های عصبی گلوتامات و گابا در هیپو کمپ و مخچه تغییر می‌یابد(23،22). همچنین مطالعات نشان داده‌اند که جهت حفظ عملکرد طبیعی مغز، تعامل بین سلول‌های مغز و کبد دارای اهمیت بسیاری می‌باشد. با توجه به این‌که سلول‌های کبدی نقش مهمی در دفع مواد نوروتوکسین دارند، هر گونه آسیب به این سلول‌ها می‌تواند تاثیرات منفی بر بخش‌های مختلف مغز داشته باشد(24). در مطالعات حیوانی مشاهده شده است که ترشح صفرا توسط یک مسیر مرکزی مواد اپیوئیدی تنظیم می‌شود. از طرفی سطوح آندوژنیک پپتیدهای اپیوئیدی در بیماران مبتلا به کلاستاتیک و همچنین در رت‌های کلاستاز شده افزایش می‌یابد(18،27-25). با توجه به شواهدی که نشان می‌دهد کلاستاز منجر به اختلال فرایند حافظه و یادگیری در حیوانات آزمایشگاهی می‌شود(28) و همچنین مشخص شدن این امر که اپیوئیدها در پاتوفیزیولوژی

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

کلاستاز نقش دارند(29،18) و از طرفی با توجه به نقش سیستم اپیوئیدی در روند حافظه و یادگیری(5،4)، ما در این مطالعه دخالت احتمالی سیستم اپیوئیدی را در گسترش اختلال حافظه ناشی از کلاستاز با استفاده از مدل اجتنابی غیرفعال در موش صحرایی بررسی کردیم.

مواد وروش ها

در این مطالعه‌ی تجربی از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی 250 تا 200 گرم استفاده شد. حیوانات در حیوانخانه دانشگاه علوم پزشکی گناباد تکثیر و نگهداری شدند. رت‌ها آزادانه به آب و غذای کافی دسترسی داشتند و در دمای 23-21 درجه سانتی‌گراد و دوره روشنایی - تاریکی 12 ساعته، در قفس‌های مخصوص به صورت گروه‌های چهارتایی نگهداری می‌شدند. این طرح با کسب مجوز از کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گناباد با کد اخلاق 1/432/پ انجام شد. نمونه‌های استفاده شده در هر گروه به‌صورت تصادفی انتخاب شدند و آزمایش‌ها طی مرحله نوری در ساعت‌های 8 تا 14 انجام گرفت، همچنین از هر حیوان تنها یک بار استفاده شد.

گروه‌های مورد مطالعه:

در این مطالعه 13 گروه 6تایی مورد مطالعه قرار گرفت که شامل گروه کنترل (بدون هیچ مداخله‌ای)، گروه شم (جراحی شده بدون بستن مجاری صفراوی)، گروه BDL (بستن مجاری صفراوی یا القای کلاستاز)، گروه‌ای mor4 و mor6 که مورفین (تهیه شده از شرکت تماد تهران، ایران)به‌ترتیب با دوز 4 و 6 میلی‌گرم برکیلوگرم(30) به صورت داخل صفاقی دریافت کردند، گروه‌های BDL-mor4 و BDL-mor6 که کلاستاز شده و مورفین را به ترتیب با دوز 4 و 6 میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کردند، گروه‌های nal0.6 و nal0.8 که نالوکسان (تهیه شده از شرکت تهران دارو، ایران) را به ترتیب با دوز 0/6 و 0/8 میلی‌گرم بر کیلوگرم(30) دریافت کردند، گروه‌های BDL-nal0.6 و BDL-nal0.8 که کلاستاز شده و نالوکسان را به ترتیب با دوز 0/6 و 0/8 میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کردند، گروه mor-nal (گروهی که نالوکسان با دوز0/6 میلی‌گرم بر کیلوگرم و به فاصله 15 دقیقه بعد مورفین را با دوز6 میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کردند)، گروه BDL-mor-nal (گروه کلاستاز شده که نالوکسان با دوز 0/6 میلی‌گرم بر کیلوگرم و به فاصله 15 دقیقه بعد مورفین را با دوز6 میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت کردند). در تمام گروه‌ها مورفین و نالوکسان 30 دقیقه قبل از آزمون شاتل باکس به داخل صفاق حیوانات تزریق می‌شد. حافظه اجتنابی غیرفعال در روز 7 بعد از BDL توسط تست شاتل باکس ارزیابی شد.

جراحی کلاستاتیک(BDL):

برای بستن مجاری صفراوی (ایجاد کلاستازی)، حیوانات با کتامین (50 میلی‌گرم بر کیلوگرم، داخل صفاقی) و زایلازین (10 میلی‌گرم بر کیلوگرم، داخل صفاقی) بیهوش شدند. بعد از بیهوشی، موهای ناحیه میانی شکم زیر جناغ توسط قیچی برداشته، سپس یک شکاف طولی به اندازه 2 سانتی‌متر در خط میانی شکم ایجاد شد و در دو مرحله پوست و عضلات جدار شکم باز شد. با بیرون کشیدن دو لوب جلویی از 4 لوب کبد مجرای صفراوی قابل رویت گردید. در گروه شاهد، مجاری صفراوی با استفاده از پنست فقط مشاهده شد. در گروه کلاستاتیک پس از یافتن مجرا، یک عدد پنس زیر آن قرار داده شد و با استفاده از نخ در دو جایگاه با فاصله نیم سانتی‌متر از هم دو گره زده شد. سپس مجرا بین دو گره قطع گردید و در داخل شکم آزاد شد. جدار شکم در دو لایه عضله و پوست با نخ به شکل بخیه دوخته شد. بعد از اتمام عمل جراحی به میزان 1 میلی‌لیتر نرمال سالین داخل صفاق رت جراحی شده تزریق گردید. پس از به هوش‌آمدن رت در گروه‌های 6 تایی با دسترسی آزاد به آب و غذای کافی نگهدای شدند. در

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

ادامه، حافظه با استفاده از آزمون یادگیری اجتناب غیرفعال در روز 7 بعد از ایجاد کلاستاز ارزیابی شد.

آزمون یادگیری احترازی غیرفعال:

دستگاه یادگیری اجتنابی مهاری(غیرفعال)، مدل Step-Through از جعبه‌ای تشکیل شده که به وسیله دیواره‌ای به دو قسمت سیاه و سفید با اندازه یکسان (با ابعاد 20، 20، 30 سانتی‌متر) تقسیم می‌شود. درون دیواره بین دو قسمت درب کشویی به ابعاد 9*7 سانتی‌متر تعبیه شده است. این دستگاه دارای دو بخش سفید و سیاه رنگ می‌باشد که بخش سیاه رنگ در قسمت کف دارای میله‌های فولادی با فاصله 1 سانتی‌متر بوده و شوک الکتریکی از طریق این میله‌ها به حیوانات مورد آزمایش وارد می‌شود. روش اجتنابی مهاری برای بررسی حافظه در موش صحرایی در 2 روز متوالی انجام شد. روز اول که روز آموزش نام دارد شامل آموزش دادن حیوانات در دستگاه بود. ابتدا هر حیوان به آرامی در بخش روشن دستگاه قرار گرفت، پس از گذشت 5 ثانیه درب کشویی باز شده و به حیوان اجازه داده شد که وارد قسمت سیاه دستگاه شود. بلافاصله بعد از ورود حیوان به بخش سیاه، درب کشویی بسته شده و حیوان از دستگاه خارج شد. پس از گذشت 30 دقیقه این حیوان دوباره به بخش سفید دستگاه انتقال یافت و پس از گذشت 5 ثانیه درب کشویی باز شد تا حیوان وارد بخش تاریک گردد. با ورود حیوان به بخش تاریک و بسته شدن درب کشویی، حیوان تحریک الکتریکی را با شدت 1 میلی آمپر و فرکانس 50 هرتز، به مدت 3 ثانیه دریافت کرد. آزمون 24 ساعت پس از مرحله آموزش انجام شد. در روز آزمون همانند روز آموزش، حیوان در بخش سفید قرار گرفت و با باز شدن درب کشویی زمان تاخیر حیوان در ورود به بخش تاریک دستگاه به عنوان معیاری برای بررسی میزان حافظه در نظر گرفته شد. بیش‌ترین مقدار تاخیر برای ورود به بخش تاریک که به عنوان حافظه کامل شناخته می‌شود 300 ثانیه در نظر گرفته شد(31).

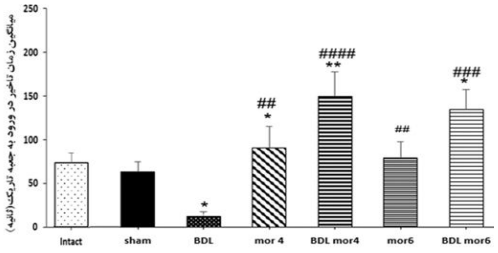
آنالیز آماری:

تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار آماری Graphpad prism 8.0.2 انجام شد. جهت تعیین سطوح تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها از آزمون one-way ANOVA استفاده شد و جهت مقایسه دوبه دو گروه‌ها از آزمون متعاقب Tukey استفاده گردید. نتایج به صورت Mean±SEM بیان شده است و P <0/05 به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته ها

اثرات کلاستاز بر روند حافظه

از آن‌جایی‌که بر اساس نتایج به دست آمده هیچ تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل (Intact) و گروه شم وجود نداشت (نمودار شماره 1) نتایج در گروه‌های مختلف با گروه شم مقایسه شد. آنالیز داده‌ها توسط آزمون One-way ANOVA و تست تعقیبی Tukey نشان داد که به دنبال بستن مجاری صفراوی و القای کلاستاز در گروه BDL، میانگین زمان تاخیر در ورود به جعبه تاریک نسبت به گروه شم به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد (P<0/05، نمودار شماره 1).



نمودار شماره 1 : مقایسه تاثیر مورفین بر میانگین زمان تاخیر در ورود به جعبه تاریک در موش های کلاستاز شده (n=6). نمودارها به صورت Mean ± SEM نشان داده شده اند.
(*: P<0/05 و **: P<0/01 در مقایسه با گروه شم و ##: P<0/01 و ###: P<0/001 و ####: P<0/0001 در مقایسه با گروه BDL)

تاثیر تزریق داخل صفاقی دوز 4 و 6 میلی‌گرم مورفین بر حافظه در صورت وجود و عدم وجود کلاستاز:

آنالیز داده ها توسط آزمون One-way ANOVA

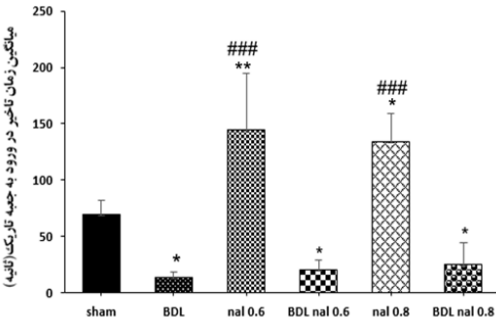
[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

و تست تعقیبی Tukey نشان داد که تزریق مورفین با دوز 4 میلی‌گرم بر کیلوگرم به داخل صفاق حیوانات (گروه mor4) قبل از تست شاتل باکس منجر به افزایش معنی‌داری در میانگین زمان تاخیر در ورود به جعبه تاریک نسبت به گروه شم شد (P <0/05)، نمودار شماره1). تزریق مورفین با دوز 6 میلی‌گرم بر کیلوگرم (گروه mor6) نیز منجر به افزایش در میانگین زمان تاخیر در ورود به جعبه تاریک شد نسبت به گروه شم شد ولی معنی‌دار نبود (P >0/05) (نمودار شماره 1). همچنین مدت زمان تاخیر در ورود به جعبه تاریک در گروه های BDLmor4 و BDLmor6 که کلاستاز شده و مورفین را به ترتیب با دوز 4 و 6 میلی‌گرم دریافت کرده بودند، نسبت به گروه شم و همچنین نسبت به گروه BDL افزایش معنی داری داشت (به ترتیب P <0/01 و P <0/05 نسبت به گروه شم و P < 0/0001 و P <0/001 نسبت به گروه BDL ، نمودار شماره 1).

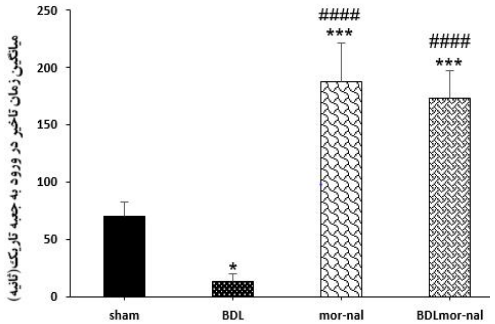
تاثیر تزریق داخل صفاقی دوز0/6 و 0/8 میلی‌گرم نالوکسان بر حافظه در صورت وجود و عدم وجود کلاستاز:

آنالیز داده‌ها توسط آزمون One-way ANOVA و تست تعقیبی Tukey نشان داد که تزریق نالوکسان (با دوز 0/6 و 0/8 میلی‌گرم، داخل صفاقی) قبل از ارزیابی حافظه توسط شاتل باکس منجر به افزایش معنی‌داری در میانگین زمان تاخیر در ورود به جعبه تاریک نسبت به گروه شم و BDL می‌شود. (به ترتیب P <0/001 و P <0/05 نسبت به گروه شم و P <0/001 نسبت به گروه BDL نمودار شماره 2).

در گروه‌های BDLnal0.6 و BDLnal0.8 که کلاستاز شده و به ترتیب نالوکسان را با دوز 0/6 و 0/8 میلی‌گرم دریافت کرده بودند میانگین زمان تاخیر در ورود به جعبه تاریک به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه شم کاهش پیدا کرد (P <0/05)، نمودار شماره 3) در حالی که نسبت به گروه BDL تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.



نمودار شماره 2: مقایسه تاثیر نالوکسان بر میانگین زمان تاخیر در ورود به جعبه تاریک در موش های کلاستاز شده (n=6). نمودارها به صورت Mean ± SEM نشان داده شده اند.
(*: P<0/05 و **: P<0/01 در مقایسه با گروه شم و ###: P<0/001 در مقایسه با گروه BDL)



نمودار شماره 3: مقایسه اثر توام مورفین-نالوکسان بر میانگین زمان تاخیر در ورود به جعبه تاریک در موش های کلاستاز شده (n=6). نمودارها به صورت Mean ± SEM نشان داده شده اند.
(*: P<0/05 و ***: P<0/001 در مقایسه با گروه شم و ####: P<0/0001 در مقایسه با گروه BDL)

تاثیر تزریق توام مورفین و نالوکسان بر حافظه در صورت وجود و عدم وجود کلاستاز:

در گروه mor-nal که 30 دقیقه قبل از آزمون شاتل باکس نالوکسان و به فاصله 15 دقیقه بعد مورفین دریافت کرده بودند، مشاده شد که میانگین زمان تاخیر در ورود به جعبه تاریک به طور معنی‌داری نسبت به گروه شم (P <0/001) و همچنین گروه BDL (P <0/0001) افزایش می‌یابد. مقایسه نتایج برای گروه BDL-mor-nal نسبت به گروه شم و BDL نیز مشابه با گروه mor-nal بود.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

بحث

با توجه به مطالعات قبلی مشخص شده است که سطوح اپیوئیدهای اندوژنیک در حیوانات کلاستاتیک افزایش پیدا می‌کند(26،27). از طرفی سیستم اپیوئیدی در روند حافظه و یادگیری نیز ایفای نقش می‌کند(4،5). همچنین شواهدی و جود دارد که نشان می‌دهد کلاستاز منجر به اختلال فرایند حافظه و یادگیری در حیوانات آزمایشگاهی می‌شود(28). ما در این مطالعه دخالت سیستم اپیوئیدی را بر حافظه رت‌های کلاستاز شده بررسی کردیم.

در بررسی اثر کلاستاز بر روند حافظه مشاهده شد که کلاستاز منجر به کاهش زمان تاخیر در ورود به جعبه تاریک نسبت به گروه شم می‌شود. در مطالعه‌ای که اثر آسیب کبدی را بر اختلال حافظه فضایی با استفاده از تست ماز آبی موریس بررسی کرده است نتایج حاصل همسو با نتایج این مطالعه می‌باشد(28). در مطالعه‌ای مشاهده شده است که نارسایی کبدی متعاقب انسداد مجرای صفراوی موجب تغییر در گیرنده‌های AMPA و NMDA می‌شود. همچنین در مطالعه دیگری سیر زمانی بروز اختلال حافظه فضایی در هفته‌های 2، 3 و 4 متعاقب انسداد مجرای صفراوی تایید شده است(32). علاوه براین در توجیه اختلال حرکتی و شناختی متعاقب انسداد مجرای صفراوی مطالعات دیگر نشان دادند که الگوی شلیک نورن‌ها در اثر تغییر در رهایش میانجی‌های عصبی گلوتامات و گابا در هیپو کمپ و مخچه تغییر می یابد(22، 23). با توجه به اینکه گفته می شود کلاستاز با افزایش آندوتوکسین‌ها مرتبط است و آندوتوکسین‌ها نیز منجر به آسیب با شدت‌های متفاوت در مغز می‌شوند(33)، لذا احتمال داردکه تخریب حافظه ناشی از افزایش آندوتوکسین‌ها به دنبال کلاستاز باشد.

در ارتباط با اثر مورفین بر روند حافظه و یادگیری مطالعات ضد و نقیضی وجود دارد. بخش عمده مطالعات نشان می‌دهند که مورفین منجر به کاهش حافظه می‌شود از طرفی در مطالعاتی مورفین منجر به تسهیل حافظه می‌شود. مشخص شده است که مورفین باعث نقص‌های شناختی می‌شود و استفاده از اپیوییدها به ویژه مورفین، حافظه و یادگیری را تحت تاثیر قرار داده و می‌تواند نورون‌زایی را در هیپوکمپ موش‌های صحرایی بالغ مهار کند(4). در مدل تزریق سیستمیک مورفین نیز مشاهده شد که مورفین منجر به اختلال در تثبیت حافظه و ایجاد فراموشی می‌شود(10). در مطالعه‌ای دیگر نیز مشاهده شد که تزریق مورفین به ناحیه آمیگدال باعث اختلال در اجرای آزمایش اجتنابی مهاری شده و منجر به فراموشی در موش‌های صحرایی می‌شود(34). در تحقیق دیگری مشاهده شد که تزریق مورفین در ناحیه تگمنتال شکمی به صورت حاد در موش‌های سوری در آزمایش اجتنابی غیرفعال باعث تخریب بازیابی حافظه می‌گردد(35). همچنین مورفین منجر به تخریب یادگیری احترازی فعال می‌شود که وابسته به دوز مورفین است(16). در این مطالعه نتایج نشان داد که تزریق داخل صفاقی مورفین با دوز 4 میلی‌گرم، قبل از آزمون ارزیابی حافظه منجر به افزایش معنی‌داری در میانگین مدت زمان تاخیر در ورود به جعبه تاریک نسبت به گروه شم شد (نمودار شماره 1) در حالی که این افزایش برای دوز بالاتر 6 میلی‌گرم معنی‌دار نبود. بنابراین با توجه به نتایج این مطالعه، مورفین در دوز های پایین دارای نقش تسهیلی بر روند حافظه موش صحرایی است در حالی که در دوزهای بالاتر می‌تواند اثرات عکس داشته باشد.

در ادامه مطالعه، با تزریق مورفین با دوز 4 و 6 میلی‌گرم به موش‌های کلاستاز شده، اثر مورفین را به عنوان آگونیست اپیوییدی بر حافظه موش‌های کلاستاز شده بررسی کردیم. مشاهده شد که تزریق داخل صفاقی مورفین به موش‌های کلاستاز شده منجر به افزایش معنی داری در میانگین زمان تاخیر در ورود به جعبه تاریک نسبت به گروه شم و همچنین BDL می‌شود (نمودار شماره 1). به عبارتی کلاستاز اثرات تسهیلی مورفین بر حافظه را افزایش می‌دهد. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد اپیوئیدها در پاتوفیزیولوژی و تظاهرات کلاستاز نیز نقش دارند(18،29). با توجه به

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

این‌که مشخص شده است سطوح اپیوئیدی در موش‌های کلاستاتیک افزایش می‌یابد(27،26)، بنابراین احتمالا مورفین تزریقی با مواد اپیوئیدی اندوژنیک ناشی از کلاستاز منجر به هم افزایی در اثرگذاری بر روند حافظه شده است.

در مدل ماز آبی موریس مشخص شده است که آگونیست‌های اپیوئیدی منجر به تخریب روند فراگیری و آنتاگونیست آن‌ها منجر به تسهیل روند یادگیری می‌شوند(37،36).

در مطالعه احمدی و همکاران نیز مشاهده شد که اختلال حافظه ناشی از اشعه تلفن همراه در مرحله تثبیت حافظه، توسط بلاک سیستم اپیوئیدی به‌طور کامل بهبود می‌یابد(11). از طرفی در مطالعه دیگری مورفین، به خاطرآوری حافظه را در روش احترازی غیر فعال تسهیل کرد که این اثر را از طریق گیرنده‌های مو- اپیوییدی انجام می‌دهد و اثرات به طور کامل ب‌وسیله نالوکسان آنتاگونیزه می‌شود(38). با توجه به مطالعات فوق انتظار می‌رفت در این مطالعه نیز اثرات تزریق نالوکسان بر حافظه عکس اثرات مورفین باشد، به عبارتی نالوکسان اثرات مورفین را آنتاگونیزه کند در حالی که نتایج نشان داد تزریق داخل صفاقی نالوکسان در هر دو دوز 0/6 و 0/8 میلی‌گرم منجر به افزایش میانگین زمان تاخیر در ورود به جعبه تاریک می‌شود (نمودار شماره 2).

مقایسه نتایج در گروه‌های BDL-nal0.6 و BDLnal0.8 با گروه BDL ، و گروه‌هایی که کلاستاز نشدند و نالوکسان دریافت کرده بودند، نشان داد که کلاستاز اثرات تسهیلی نالوکسان بر حافظه را بلاک می‌کند. در ادامه نیز تاثیر تزریق همزمان نالوکسان و مورفین بر حافظه بررسی شد. بر اساس نتایج، تزریق توامان مورفین و نالوکسان منجر به افزایش معنی‌داری در مدت زمان تاخیر در ورود به جعبه تاریک نسبت به گروه شم و BDL می‌شود (نمودار شماره 3) و همچنین در گروهی که کلاستاز شده و تزریق توامان مورفین و نالوکسان را دریافت کرده بودند نیز افزایش معنی‌داری در مدت زمان تاخیر در ورود به جعبه تاریک مشاهده شد. با توجه به نتایج، کلاستاز منجر به‌کاهش حافظه می‌شود، اما اثرات تسهیلی مورفین بر حافظه در موش‌های کلاستاز شده افزایش می‌یابد، بنابراین احتمالا اثرات کلاستاز برکاهش حافظه از مکانیسمی غیر از دخالت آن بر سیستم‌های اپیوئیدی می‌باشد. براساس مطالعات قبلی احتمالا کلاستاز باعث تغییر در گیرنده‌ها و تغییر در رهایش میانجی‌های عصبی و الگوی شلیک نورونی می‌شود و از طرفی منجر به افزایش آندوتوکسین‌ها شده و باعث کاهش حافظه می‌شود و مورفین به واسطه مکانیسم‌های ناشناخته اثر محافظتی بر روی تخریب حافظه ناشی از کلاستاز دارد.

References

1. Thompson RF, Kim JJ. Memory systems in the brain and localization of a memory. Proc Natl Acad Sci USA 1996; 93(24): 13438-13444.
2. Kumar H, More SV, Han SD, Choi JY, Choi DK. Promising therapeutics with natural bioactive compounds for improving learning and memory—a review of randomized trials. Molecules 2012; 17(9): 10503-10539.
3. Assunção M, Santos-Marques MJ, Carvalho F, Andrade JP. Green tea averts age-dependent decline of hippocampal signaling systems related to antioxidant defenses and survival. Free Radical Biol Med 2010; 48(6): 831-838.
4. Eisch AJ, Barrot M, Schad CA, Self DW, Nestler EJ. Opiates inhibit neurogenesis in the adult rat hippocampus. Proc Natl Acad Sci 2000; 97(13): 7579-7584.
5. Salmanzadeh F, Fathollahi Y, Semnanian S, Shafizadeh M. Dependence on morphine

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

impairs the induction of long-term potentiation in the CA1 region of rat hippocampal slices. Brain Res 2003; 965(1-2): 108-113.

6. Sharifi KA, Rezayof A, Torkaman-Boutorabi A, Zarrindast MR. The major neurotransmitter systems in the basolateral amygdala and the ventral tegmental area mediate morphine-induced memory consolidation impairment. Neuroscience 2017; 353: 7-16.
7. Khajehpour L, Rezayof A, Zarrindast MR. Involvement of dorsal hippocampal nicotinic receptors in the effect of morphine on memory retrieval in passive avoidance task. Eur J pharmacol 2008; 584(2-3): 343-351.
8. Cai Y, Yang L, Hu G, Chen X, Niu F, Yuan L, et al. Regulation of morphine-induced synaptic alterations: Role of oxidative stress, ER stress, and autophagy. J Cell Biol 2016; 215(2): 245-258.
9. Skrabalova J, Drastichova Z, Novotny J. Morphine as a Potential Oxidative Stress-Causing Agent. Mini Rev Org Chem 2013; 10(4): 367-372.
10. Tirgar F, Rezayof A, Alijanpour S, Yazdanbakhsh N. Interactive effects of morphine and nicotine on memory function depend on the central amygdala cannabinoid CB1 receptor function in rats. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2018; 82: 62-8.
11. Ahmadi S, Alavi SS, Jadidi M, Ardjmand A. Exposure to GSM 900-MHz mobile radiation impaired inhibitory avoidance memory consolidation in rat: Involvements of opioidergic and nitrergic systems. Brain Res 2018; 1701: 36-45.
12. Zarrindast MR, Rezayof A. Morphine state-dependent learning: sensitization and interactions with dopamine receptors. Eur J Pharmacol 2004; 497(2): 197-204.
13. Izquierdo I, Medina JH. Memory formation: the sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures. Neurobiol learn Mem 1997; 68(3): 285-316.
14. Izquierdo I, McGaugh JL. Behavioural pharmacology and its contribution to the molecular basis of memory consolidation. Behav Pharmacol 2000; 11(7-8): 517-534.
15. Shiigi Y, Takahashi M, Kaneto H. Facilitation of memory retrieval by pretest morphine mediated by mu but not delta and kappa opioid receptors. Psychopharmacology(Berl) 1990; 102(3): 329-332.
16. Aguilar MA, Minarro J, Simon VM. Dose-dependent impairing effects of morphine on avoidance acquisition and performance in male mice. Neurobiol Learn Mem 1998; 69(2): 92-105.
17. Gaskari SA, Honar H, Lee SS. Therapy insight: Cirrhotic cardiomyopathy. Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol 2006; 3(6): 329-337.
18. Gholipour T, Riazi K, Noorian AR, Jannati A, Honar H, Doratotaj B, et al. Seizure susceptibility alteration following reversible cholestasis in mice: Modulation by opioids and nitric oxide. Eur J Pharmacol 2008; 580(3): 322-328.
19. Nasehi M, Sabouri Khanghah V, Mirzaei Varzeghani S, Zarrindast MR. Involvement of nitric oxide system on anxiolytic-like behaviors induced by cholestasiss. Basic Clin Neurosci 2012; 3(5): 19-29.
20. Ahmadi S, Karami Z, Mohammadian A, Khosrobakhsh F, Rostamzadeh J. Cholestasis induced antinociception and decreased gene expression of MOR1 in rat brain. Neuroscience 2015; 284: 78-86.
21. Bergasa NV, Rothman RB, Vergalla J, Xu H, Swain MG, Jones EA. Central mu-opioid

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

receptors are down-regulated in a rat model of cholestasis. J Hepatol 1992; 15(1-2): 220-224.

22. Aghaei I, Hajali V, Dehpour A, Haghani M, Sheibani V, Shabani M. Alterations in the intrinsic electrophysiological properties of Purkinje neurons in a rat model of hepatic encephalopathy: Relative preventing effect of PPARgamma agonist. Brain ResBull 2016; 121: 16-25.
23. Tahamtan M, Aghaei I, Pooladvand V, Sheibani V, Khaksari M, Shabani M. Characterization of the CA1 pyramidal neurons in rat model of hepatic cirrhosis: insights into their electrophysiological properties. Metab Brain Dis 2017; 32(3): 881-889.
24. Zollner G, Trauner M. Nuclear receptors as therapeutic targets in cholestatic liver diseases. Br J Pharmacol 2009; 156(1): 7-27.
25. Demehri S, Samini M, Namiranian K, Rastegar H, Mehr SE, Homayoun H, et al. Alpha 2-adrenoceptor and NO mediate the opioid subsensitivity in isolated tissues of cholestatic animals. Auton Autacoid Pharmacol 2003; 23(4): 201-207.
26. Bergasa NV, Sabol SL, Young WS, 3rd, Kleiner DE, Jones EA. Cholestasis is associated with preproenkephalin mRNA expression in the adult rat liver. Am J Physiol 1995; 268(2 Pt 1): G346- G354.
27. Bergasa NV, Vergalla J, Swain MG, Jones EA. Hepatic concentrations of proenkephalin-derived opioids are increased in a rat model of cholestasis. Liver 1996; 16(5): 298-302.
28. Monfort P, Erceg S, Piedrafita B, Llansola M, Felipo V. Chronic liver failure in rats impairs glutamatergic synaptic transmission and long-term potentiation in hippocampus and learning ability. Eur J Neurosci 2007; 25(7): 2103-2111.
29. Jones EA, Bergasa NV. Evolving concepts of the pathogenesis and treatment of the pruritus of cholestasis. Can J Gastroenterol. Can J Gastroenterol 2000; 14(1): 33-40.
30. Eslimi D, Oryan S, Nasehi M, Zarrindast MR. Effects of opioidergic systems upon anxiolytic-like behaviors induced in cholestatic rats. Eur J Pharmacol 2011; 670(1): 180-185.
31. Nazari-Serenjeh F, Darbandi N, Majidpour S, Moradi P. Ghrelin modulates morphine-nicotine interaction in avoidance memory: Involvement of CA1 nicotinic receptors. Brain Res 2019; 1720: 146315.
32. Aghaei I, Saeedi Saravi SS, Ghotbi Ravandi S, Nozari M, Roudbari A, Dalili A, et al. Evaluation of prepulse inhibition and memory impairments at early stage of cirrhosis may be considered as a diagnostic index for minimal hepatic encephalopathy. Physiol Behav 2017; 173: 87-94.
33. Harry D, Anand R, Holt S, Davies S, Marley R, Fernando B, et al. Increased sensitivity to endotoxemia in the bile duct-ligated cirrhotic Rat. Hepatology 1999; 30(5): 1198-1205.
34. Ragozzino ME, Gold PE. Task-dependent effects of intra-amygdala morphine injections: attenuation by intra-amygdala glucose injections. J Neurosci 1994; 14(12): 7478-7485.
35. Zarrindast MR, Bananej M, Khalilzadeh A, Fazli-Tabaei S, Haeri-Rohani A, Rezayof A. Influence of intracerebroventricular administration of dopaminergic drugs on morphine state-dependent memory in the step-down passive avoidance test. Neurobiol learn mem 2006; 86(3): 286-292.
36. McNamara RK, Skelton RW. Pretraining morphine impairs acquisition and performance in the Morris water maze: Motivation reduction rather than anmesia. Psychobiology 1991; 19(4): 313-122.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]

37. McNamara RK, Skelton RW. Pharmacological dissociation between the spatial learning deficits produced by morphine and diazepam. Psychopharmacology 1992; 108(1-2): 147-152.

38. Shiigi Y, Takahashi M, Kaneto H. Facilitation of memory retrieval by pretest morphine mediated by μ but not δ and κ opioid receptors. Psychopharmacology 1990; 102(3): 329-332.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-11]