Atti Accademia Nazionale dei Lincei

Classe Scienze Fisiche Matematiche Naturali

Rendiconti

Claudio Castellano, Rita Gasbarra

Influenza della morfina e dell'eroina sui processi di consolidazione della memoria del topo

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. **56** (1974), n.6, p. 996–1003.

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1974_8_56_6_996_0>

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

Articolo digitalizzato nel quadro del programma bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica) SIMAI & UMI
http://www.bdim.eu/

Psicobiologia. — *Influenza della morfina e dell'eroina sui processi di consolidazione della memoria del topo.* Nota di CLAUDIO CASTELLANO e RITA GASBARRA, presentata (*) dal Socio D. BOVET.

SUMMARY. — Morphine and heroin have been injected in DBA/2J mice during a light-dark discrimination learning, in the Y water maze.

From the analysis of the performances inside each session and between two consecutive sessions, an impairment in the long term memory consolidation processes of the opiates injected animals has been evident, as compared to saline injected controls.

The results are discussed on the basis of the dualistic concept of memory, and of recent neurophysiological acquisitions on the REM phase of sleep, and its relationship with opiate administration.

L'azione delle sostanze stupefacenti, morfina in particolare, è stata studiata sia in animali già addestrati che in corso di addestramento in varie condizioni sperimentali. Tutte le ricerche effettuate hanno messo chiaramente in evidenza l'effetto deprimente esercitato dagli oppiacei sul comportamento (Cook e Weidley, 1957, Holten e Sonne, 1958; Clarck e Samuel, 1969; Hill *et al.*, 1957; Banerjee, 1971; Holtzmann e Jewett, 1971; Castellano, 1973).

La presente ricerca è stata condotta allo scopo di effettuare un'analisi approfondita dei meccanismi alla base di tale effetto deprimente, anche alla luce delle più recenti acquisizioni nel campo degli effetti neurofisiologici di tale gruppo di sostanze. A questo fine è stato utilizzato un test di discriminazione in un labirinto ad acqua a forma di Y. Tale scelta è stata fatta tenendo conto delle possibilità di studiare, in questa condizione sperimentale, il comportamento degli animali sotto l'influenza di un'elevata motivazione ed in due condizioni sperimentalmente differenti, l'una corrispondente alla consolidazione di un comportamento innato (direzionalità verso la luce), l'altra all'acquisizione di una nuova forma di comportamento (direzionalità verso il buio). La scelta di questa tecnica particolare (discriminazione luce–buio) è stata effettuata anche tenendo conto dell'utilità già dimostrata da questo test nell'analisi dell'effetto psicotico di altri tipi di farmaci. Esperimenti precedenti avevano infatti già dimostrato come sia possibile mettere in evidenza una differente sensibilità dei due comportamenti all'azione di vari agenti farmacologici, e come, in particolar modo, il comportamento innato sia risultato sovente più resistente dell'acquisito all'azione disturbante dei farmaci (Castellano, 1971 a, b; Castellano, 1973). Questo test si era inoltre dimostrato utile nell'analisi degli effetti di alcune sostanze (cocaina, amfetamina e pemolina) sull'apprendimento e la memoria del topo (Castellano, 1974).

(*) Nella seduta del 29 giugno 1974.

METODI

L'apparecchiatura consiste di due labirinti ad Y identici in plexiglas nero. Ogni braccio della Y misura cm. 35 di lunghezza, 9 di larghezza e 33 di altezza. Ad ognuna delle tre estremità, a circa 15 cm di altezza, è situata una piattaforma mobile, ed al di sopra di questa una sorgente luminosa. L'acqua arriva al livello delle piattaforme quando queste sono sollevate, e le copre per circa 10 cm quando sono abbassate. Un apparecchio termostatico mantiene l'acqua a temperatura ambiente (circa 20° C). L'apparecchio, completamente automatizzato, è programmato in modo che ogni minuto si abbassi la piattaforma su cui è posto l'animale e contemporaneamente, con sequenza casuale, si alzi una piattaforma in un altro braccio. In rapporto alla modalità di accensione della sorgente luminosa vi è la possibilità di scelta fra due programmi: *a*) in un primo programma (direzionalità verso la luce) ogni minuto si abbassa la piattaforma su cui è posto l'animale e si spegne la luce sovrastante, mentre contemporaneamente si alza un'altra piattaforma e si accende la luce corrispondente, con sequenza causale; *b*) in un secondo programma (direzionalità verso il buio) la piattaforma alzata è invece associata con la mancanza di luce.

I labirinti in funzione sono coperti da un pesante telo nero per impedire l'orientamento visivo dell'animale, e costringerlo alla discriminazione luce–buio. I movimenti dell'animale sono registrati da tre cellule a raggi infrarossi poste una per braccio, e riportati da un poligrafo a quattro penne, tre corrispondenti ai bracci ed una per registrare la risposta corretta. Si distinguono: *a*) risposte corrette, *b*) errori semplici (l'animale prende un braccio sbagliato ma poi, una volta uscitone, dà la risposta corretta), *c*) errori multipli (l'animale prende più volte un braccio sbagliato).

Gli esperimenti sono stati condotti su gruppi distinti di topi che venivano iniettati con le sostanze in esame nel corso dell'allenamento a dirigersi verso la luce o verso il buio. Ogni seduta di allenamento, della durata di 5 min comprendeva 5 prove alla distanza di 1 min una dall'altra. Le prove sono state condotte per un arco di 10 sedute, e le prestazioni degli animali trattati sono state confrontate con quelle di animali di controllo iniettati con soluzione fisiologica. Per la presente ricerca sono stati utilizzati 200 topi ♂ appartenenti al ceppo DBA/2J (Jackson Lab.) del peso di circa 25 gr all'inizio dell'esperimento. Per il trattamento farmacologico sono state utilizzate morfina ed eroina cloridrate. Esse sono state iniettate per via endoperitoneale ciascuna in gruppi differenti di 8 animali, 15 min prima dell'esercizio, alle dosi di 10, 30 e 50 mg/kg per la morfina e 5, 10 e 20 mg/kg per l'eroina.

RISULTATI

1) *Controlli* (fig. 1, 3).

Confermando i risultati già ottenuti con il test da noi usato (Sansone *et. al.* 1969) gli animali allenati a dirigersi verso la luce partivano da un livello di risposte corrette superiore al 50 %, con una percentuale minima di errori

multipli in prima seduta, e raggiungevano dopo tre sedute il 100 % di risposte corrette. Gli animali allenati a dirigersi verso il buio mostravano di acquisire questo comportamento molto più lentamente del precedente, partendo da una percentuale di risposte corrette del 30 % circa in prima seduta. Gli errori multipli erano in questo gruppo significativamente superiori a quelli del gruppo precedente e venivano del tutto eliminati solo dopo la quarta seduta. Il criterio del 100 % di risposte corrette era raggiunto, in questo gruppo, solo all'ottava seduta di allenamento.

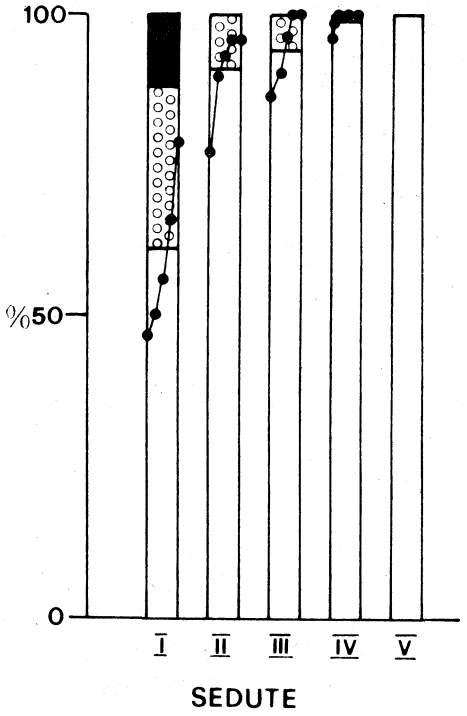

Fig. 1. – Media percentuale delle risposte corrette (colonne chiare), errori semplici (colonne con cerchietti), errori multipli (colonne scure), ed analisi delle prestazioni all'interno delle sedute, di 8 topi di controllo allenati a dirigersi verso la luce.

2) *Trattamento* (fig. 2, 4).

I due gruppi di animali trattati con 10 mg/kg di morfina e 5 mg/kg di eroina rispettivamente, nel corso dell'allenamento a dirigersi verso la luce, mostravano in prima seduta un comportamento simile a quello dei controlli, e cioè le loro prestazioni non scendevano mai al di sotto del livello di 50 % di risposte corrette. Nel corso delle sedute successive, invece, le prestazioni degli animali trattati si mantenevano costantemente al di sotto di quelle del gruppo di controllo, e miglioravano molto lentamente, sicché solo in 10ª seduta raggiungevano il livello del 90 % di risposte corrette.

Anche negli animali trattati con le stesse dosi e allenati a dirigersi verso il buio si osserva un rallentamento nell'acquisizione di questo nuovo comportamento, ed essi raggiungevano in decima seduta circa l'80 % di risposte corrette.

I due gruppi di topi trattati rispettivamente con 30 mg/kg di morfina e 10 mg/kg di eroina, nel corso dell'allenamento a dirigersi verso la luce, par-

tivano, similmente a quelli trattati con le dosi inferiori, da livelli simili a quelli dei controlli, ma le loro prestazioni rimanevano oscillanti intorno alla media di partenza fino alla decima seduta.

Alle stesse dosi, i gruppi di animali allenati a dirigersi verso il buio mostravano, a partire dalla quarta seduta un livello di prestazioni significativamente inferiore a quello dei controlli e tale da non raggiungere ancora in decima

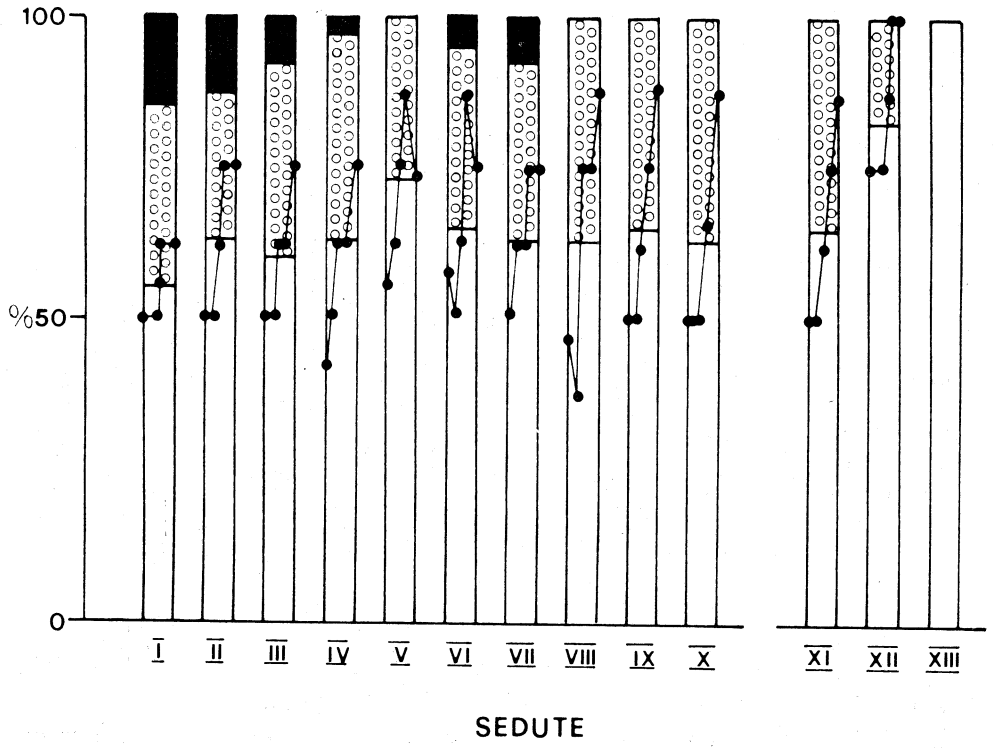

Fig. 2. – I–X. Media percentuale di risposte corrette (colonne chiare), errori semplici (colonne con cerchietti), errori multipli (colonne scure), ed analisi delle prestazioni all'interno delle sedute di 8 topi trattati con 30 mg/kg di morfina ed allenati a dirigersi verso la luce. XI–XIII. Sospensione del trattamento. Analisi statistica (tratt. vs. controlli) (test di Student); I: n.s.; II–III; XII : $p < 0.05$; IV–XI: $p < 0.01$; XIII: n.s.

seduta il 50 % di risposte corrette. A dosi superiori (50 mg/kg di morfina e 20 mg/kg di eroina) gli animali trattati manifestavano fenomeni di incoordinazione motoria, e nella maggioranza dei casi dovevano essere tolti dall'apparecchio per evitarne l'affogamento.

Sia per gli animali di controllo che per gli animali trattati è stata infine condotta un'analisi delle prestazioni all'interno di ogni seduta mediante il calcolo della media percentuale delle risposte corrette relativa a ciascuna delle prove di cui la seduta era composta.

Per quanto riguarda i gruppi di controllo, quest'analisi ha permesso di mettere in evidenza un progressivo e costante aumento delle prestazioni all'interno di ogni singola seduta di allenamento; un graduale incremento delle prestazioni è stato inoltre sempre registrato fra ogni seduta e quella successiva.

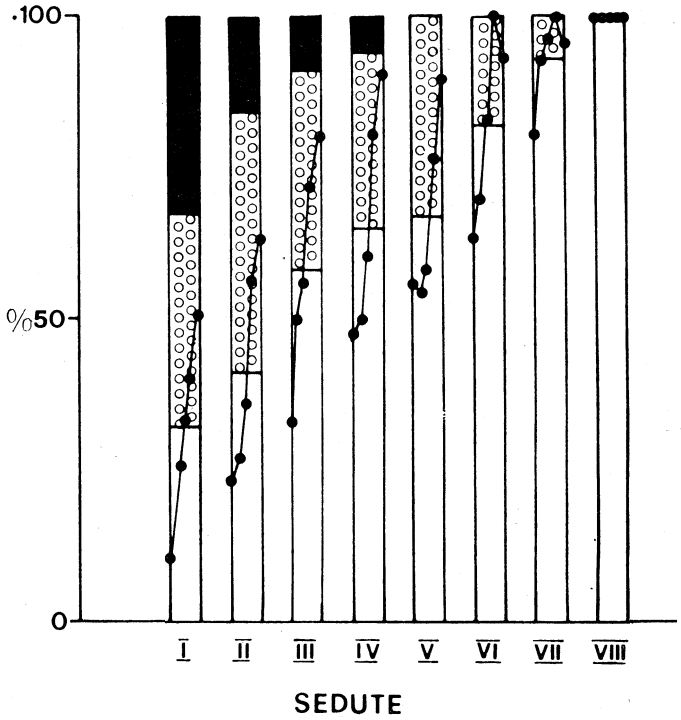

Fig. 3. – Media percentuale delle risposte corrette (colonne chiare), errori semplici (colonne con cerchietti), errori multipli (colonne scure), ed analisi delle prestazioni all'interno delle sedute, di 8 topi di controllo allenati a dirigersi verso il buio.

Per quanto riguarda gli animali sottoposti a trattamento, al contrario, in entrambe le condizioni sperimentali, tra l'ultima prova di ogni seduta e la prima della seduta immediatamente successiva si è sempre registrato un crollo delle prestazioni, le quali miglioravano poi costantemente nell'ambito della seduta stessa, come per i gruppi di animali di controllo.

Discussione

La presente ricerca mette chiaramente in risalto l'esistenza di un'interferenza operata dai farmaci stupefacenti sui processi di consolidazione della memoria.

Le analisi dell'andamento delle prestazioni all'interno di ogni seduta e fra due sedute consecutive mettono in evidenza come, similmente ai controlli, nell'ambito di ogni seduta le prestazioni degli animali trattati con morfina od eroina migliorino progressivamente, e al contrario dei controlli, un netto crollo delle prestazioni sia evidente tra ogni seduta e la successiva.

I risultati appaiono particolarmente suggestivi, in quanto essi possono essere interpretati in base al concetto dualistico della memoria: i farmaci stupe-

facenti lascerebbero cioè inalterata la capacità di apprendere nel corso di una stessa seduta (memoria a breve termine) mentre interferirebbero con i processi di consolidazione della memoria (memoria a lungo termine).

L'effetto della morfina e dell'eroina, può essere paragonato quindi agli effetti provocati dagli anestetici generali (protossido d'azoto, etere) e descritti da Jarvik (1964) e da McGaugh e coll. (1965).

Un'interpretazione dell'effetto degli oppiacei sui processi di consolidazione della memoria potrebbe essere infine fornita dalle più recenti acquisizioni

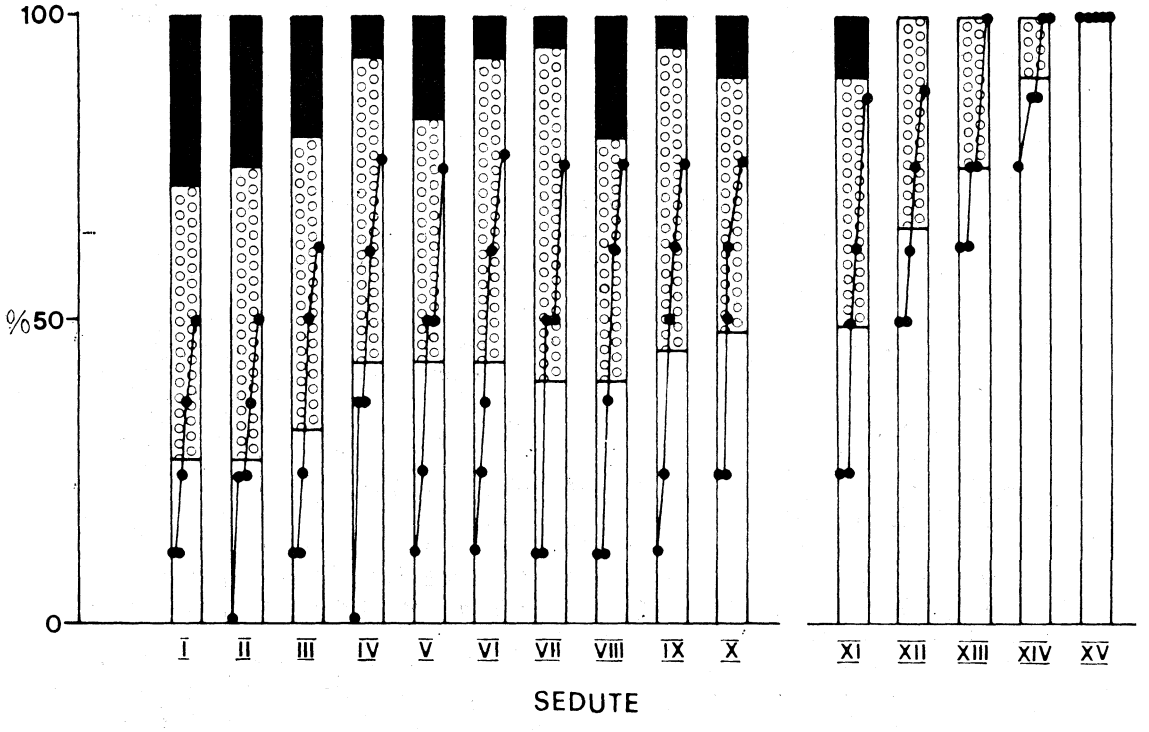

Fig. 4. – I–X. Media percentuale di risposte corrette (colonne chiare), errori semplici (colonne con cerchietti), errori multipli (colonne scure), ed analisi delle prestazioni all'interno delle sedute di 8 topi trattati con 30 mg/kg di morfina ed allenati a dirigersi verso il buio. XI–XV: Sospensione di trattamento. Analisi statistica (tratt. vs. controlli) (test di Student); I–II: n.s.; III–V; XIII: $p < 0.05$; VI–X: $p < 0.01$; XIV–XV: n.s.

sulla neurofisiologia del sonno ed in relazione al concetto del ruolo funzionale del sonno paradosso o sonno REM (Jouvet, 1967). Da risultati ottenuti con l'ausilio di tecniche atte a determinare una deprivazione sperimentale della fase REM del sonno, è stata avanzata l'ipotesi che tale stadio del sonno sia coinvolto nei processi di consolidazione della memoria (Feldman, 1968; Fishbein, 1969, 1971; Le Conte, 1970; Lucero, 1961; Pearlman, 1971, 1972; Stern, 1971), recenti ricerche di Pagel e coll. (1971) condotte su ceppi puri di topi hanno mostrato inoltre come la percentuale di sonno paradosso sia

correlata alla capacità di apprendimento e consolidazione messe in evidenza da Bovet, Bovet-Nitti, Oliverio (1969) negli stessi ceppi.

Ricerche effettuate sull'uomo (Kay *et al.* 1969), sul ratto (Khazan *et. al.* 1967) e sul gatto (Maynert e Levi, 1964; Echols e Jewett, 1972) hanno portato infine alla conclusione che la morfina causa una diminuzione nella durata e nella percentuale di sonno paradosso.

Le ricerche sopracitate ci permettono quindi di avanzare l'ipotesi che il disturbo della consolidazione della memoria osservato negli animali trattati con morfina ed eroina nelle nostre condizioni sperimentali si attua attraverso un meccanismo differente sia da quello degli anestetici generali sia da quello degli inibitori enzimatici.

BIBLIOGRAFIA

BANERJEE U. (1971) – *Acquisition of conditioned avoidance response in rats under the influence of addicting drugs*, « Psychopharmacologia (Berl.) », *22*, 133–143.

BOVET D., BOVET-NITTI F. e OLIVERIO A. (1969) – *Genetic aspects of learning and memory in mice*, « Science », *163*, 139–140.

CASTELLANO C. (1971) – *Lysergic acid diethylamide, amphetamine and chlorpromazine on water maze discrimination in mice*, « Psychopharmacologia (Berl.) », *19*, 16–25.

CASTELLANO C. (1971) – *Effects of some anticholinergic drugs on water maze learned behaviour in mice*, « Psychopharmacologia (Berl.) », *21*, 361–369.

CASTELLANO C. (1973) – *Morphine, mescaline, cocaine on water maze discrimination in mice*, « Psychopharmacologia (Berl.) », *28*, 147–153.

CASTELLANO C. (1974) – *Cocaine Pemoline and Amphetamine on learning and retention of a discrimination test in mice*, « Psychopharmacologia (Berl.) », *36*, 67–76.

CLARK K. e SAMUEL G. K. (1969) – *Drug effects in a discrete conditioned avoidance response in dogs, rhesus monkeys and rats*, « Psychopharmacologia (Berl.) », *14*, 148–155.

COOK L. and WEIDLEY E. F. (1957) – *Behavioral effects of some psychopharmacological agents*, « Ann. N. Y. Acad. Sci. », *66*, 740–753.

ECHOLS S. D. e JEWETT R. E. (1972) – *Effects of morphine on sleep in the cat*, « Psychopharmacologia (Berl.) », *24*, 435–448.

FELDMAN R. E. (1969) – *The effect of deprivation of rapid eye movement sleep on learning and retention in humans*. Ph. D. Thesis, Standord University.

FISHBEIN W. (1969) – *The effects of paradoxical sleep deprivation*, « Psychophysiology », *6*, 225–226.

FISHBEIN W. (1975) – *Retrograde amnesia: Electroconvulsive shock effects after termination of rapid eye movement sleep deprivation*, « Science », *172*, 80–82.

HILL H. E., PESCOR, F. T. BELLEVILLE R. E. e WIKLER A. (1957) – *Use of differential bar-pressing rate of rats for screening analgesic drugs: techniques and effects of morphine*, « J. Pharmac. Exp. Ther. », *120*, 388–397.

HOLTEN C. H. e SONNE E. (1955) – *Action of a series of benactyzine derivatives and other compounds on stress induced behaviour in the rat*, « Acta pharmac. (Kbh.) », *11*, 148–155.

JARVIK M. E. (1964) – *The influence of drugs upon memory*, in Steinberg H. (Ed.) *Animal Behaviour and drug action*, London, Churchill.

JOUVET M. (1967) – *Mechanisms of states of sleep. A neuropharmacological approach*. Research Publications of the Association for the Research in « Nervous and Mental Disease », *45*, 86–126.

KAY D. C., EISENSTEIN R. B. e JASINSKI D. R. (1969) – *Morphine effects on human* REM *state, waking state, and* NREM *sleep*, « Psychopharmacologia (Berl.) », *14*, 404–416.

KHAZAN D. C., WEEKS J. R. e SCHRODER L. A. (1967) – *Electroencephalographic, electromyografic and behavioral correlates during a cycle of self-maintaining morphine addiction in the rat*, « J. Pharmac. Exp. Ther. », *155*, 521–531.

LE CONTE P. e BLOCH V. (1970) – *Deficit de la retention d'un conditionnement apres privation de sommeil paradoxal chez le rat*, « C. R. Acad. Sc. Paris », *5*, 271.

LUCERO M. (1970) – *Lengthening of* REM *sleep duration consecutive learning in the rat*, « Brain Res. », *20*, 319–322.

MCGAUGH J. L. e PETRINOVICH L. F. (1965) – *Effects of drugs on learning and memory*, « Intern. Rev. Neurobiol. », *8*, 139–196.

MAYNERT E. W. e LEVI R. (1964) – *Stress-induced release of brain norepinephrine and its inhibition by drugs*, « J. Pharmac. Exp. Ther. », *143*, 90–95.

PAGEL J., PEGRAM V., VAUGHN S., DONALDSON P. and BRIDGERS W. (1973) – *The relationship of* REM *sleep with learning and memory in mice*, « Behavioral Biology », *9*, 383–388.

PEARLMAN C. A. e GREENBURG R. (1972) – *Brief* REM *deprivation impairs consolidation of complex learning in rats*, « Psychophysiology », *9*, 109–110.

PEARLMAN C. A. (1969) – *Effect of rapid eye movement (dreaming) sleep deprivation on retention of avoidance learning in rats*, « Psychon. Sic. «, *25* (3), 135–136.

SANSONE M., OLIVIERIO A., RENZI P. e BOVET D. (1969) – *Water maze discrimination learning in mice*. Communications in « Behavioral Biology », *4*, 115–119.

STERN W. C. (1970) – *The relationship between* REM *sleep and learning: animal studies of the* D*-state, dreaming and memory*, « Sleep Dreaming Int. Psychiat. Clinics », *7*, 249–257.