

تأثیرات ۲-۲۱۲،۵۵ WIN هیپوکامپ پشتی بر یادگیری وابسته به

وضعیت اسکوپولامین

هدف: بررسی اثر ۲-۲۱۲،۵۵ WIN، آگونیست گیرنده‌های کانابینوئیدی، بر یادگیری وابسته به وضعیت القاشده با اسکوپولامین. **روش:** در این مطالعه، از روش اجتنابی مهار (غیرفعال) با مدل Step-down که یک روش پذیرفته‌شده در بررسی حافظه درازمدت موش‌های سوری است، استفاده شد. **یافته‌ها:** تزریق پس از آموزش اسکوپولامین (۲،۴، میکروگرم/موش) به ناحیه CA1، باعث کاهش به یادآوری حافظه شد. کاربرد اسکوپولامین پیش از آزمون، به یادآوری حافظه در روز آزمون را به حد طبیعی برگرداند. این پدیده، به عنوان یادگیری وابسته به وضعیت اسکوپولامین شناخته می‌شود. تزریق داخل هیپوکامپی ۲-۲۱۲،۵۵ WIN (۱/۵، ۱ میکروگرم/موش) پنج دقیقه قبل از آزمون، به یادآوری حافظه را کاهش داد. از طرف دیگر، تزریق داخل هیپوکامپی ۲-۲۱۲،۵۵ WIN (۱ میکروگرم/موش) قبل از آزمون (در روز آزمون و ۲۴ ساعت بعد از آموزش)، باعث برگشت حافظه حیواناتی شد که به کار بردن اسکوپولامین (۲ میکروگرم/موش) بعد از آموزش، به یادآوری حافظه آنها را تخریب کرده بود. به علاوه، تزریق مقدار غیرمؤثر اسکوپولامین همراه با مقادیر غیرمؤثر ۲-۲۱۲،۵۵ WIN، به صورت سینرژیک، قبل از آزمون، بازگشت حافظه به وسیله اسکوپولامین را افزایش داد. **نتیجه‌گیری:** این یافته‌ها نشان می‌دهند که گیرنده‌های کانابینوئیدی ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی، نقش مهمی در فراموشی القاشده با اسکوپولامین و یادگیری وابسته به وضعیت اسکوپولامین دارند.

مرتضی پیری*

گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل

محمد ناصحی

گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار

مریم‌السادات شاهین

عضو باشگاه پژوهشگران جوان، شاخه دانشگاه آزاد اسلامی

واحد شهرری

دکتر محمد رضا زرین‌دست

گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی و مرکز ملی مطالعات

اعتیاد، دانشگاه علوم پزشکی تهران

* نشانی تماس: اردبیل، میدان بسیج، دانشکده پزشکی دانشگاه

آزاد اسلامی

Email: biopiri@yahoo.com

کلیدواژه‌ها: اسکوپولامین، ۲-۲۱۲،۵۵ WIN، یادگیری وابسته به وضعیت، یادگیری اجتنابی

مهار، موش‌های کوچک آزمایشگاهی.

Effects of WIN55,212-2 in the Dorsal Hippocampus on Scopolamine State-Dependent Memory

Objective: To assess the effects of the cannabinoid receptor agonist, WIN55, 212-2 on scopolamine induced state-dependent memory. **Method:** The step-down passive avoidance paradigm was used in the present study, which is an accepted model to examine long-term memory in mice. **Results:** Post-training intra-CA1 administration of scopolamine (2 and 4 $\mu\text{g}/\text{mouse}$) decreased the memory retrieval. Pre-test scopolamine administration restored the retrieval to the control level in the test day. This phenomenon is known as scopolamine state-dependent memory. Administration of WIN55, 212-2 (1 $\mu\text{g}/\text{mouse}$, intra-CA1) 5 min before test by itself decreased the memory retrieval. On the other hand, the animals in which memory retrieval was impaired due to scopolamine (2 $\mu\text{g}/\text{mouse}$) post-training administration, pre-test administration of WIN55, 212-2 (1 $\mu\text{g}/\text{mouse}$, intra-CA1) 24 hr after training on the day of the test restored memory. Moreover, pre-test co-administration of non-effective dose of scopolamine with ineffective dose of WIN55, 212-2 increased the restoration of memory by scopolamine. **Conclusion:** These results suggest that cannabinoid receptors of the dorsal hippocampal CA1 regions may play an important role in scopolamine-induced amnesia and scopolamine state-dependent memory.

Morteza Piri

Islamic Azad University, Ardebil Branch

Mohammad Nasehi

Islamic Azad University, Garmsar Branch

Maryam-ol-Sadat Shahin

Young Researchers Club, Islamic Azad University, Shahr-e-rey branch

Mohammad Reza Zarrindast

Tehran University of Medical Science

Keywords: scopolamine, WIN55, 212-2, state-dependent memory, passive avoidance task, mouse

Email: biopiri@yahoo.com

مرتضی پیری و همکاران

مقدمه

یادگیری وابسته به وضعیت پدیده‌ای است که در آن یادآوری اطلاعات جدید، فقط در شرایطی صورت می‌گیرد که فرد از لحاظ حسی و فیزیولوژیک در همان شرایطی قرار گیرد که اطلاعات در آن رمزگذاری شده است (شولز^۱، سوسنیک^۲، اگو^۳، هیدارلیو^۴ و اهیسر^۵، ۲۰۰۰). داروهای مختلف مانند اپیوئیدها (زرین دست و رضایوف، ۲۰۰۴)، لیتیم (زرین دست، مددی و احمدی، ۲۰۰۸) و هیستامین (زرین دست، فضلی تبائی، خلیل‌زاده، فرهنگ فر و یآوری، ۲۰۰۵) می‌توانند یادگیری وابسته به وضعیت ایجاد کنند. از مدل یادگیری اجتنابی مهارتی^۶ به‌طور گسترده، در بررسی حافظه درازمدت (که هیپوکامپ یا ساختارهای جانبی مانند استریاتوم در ایجاد آن نقش دارند) استفاده می‌شود (ایزکیوایردو^۷ و مدینا^۸، ۱۹۹۷؛ مک‌گواگ^۹ و ایزکیوایردو، ۲۰۰۰).

سیستم کولینرژیک مغز، به‌ویژه ورودی‌های کولینرژیک که از بخش میانی سیتوم و بازوی عمودی ناحیه مورب بروکا منشاء می‌گیرند، اهمیت زیادی در یادگیری و حافظه دارند (بلوکلند^۱، ۱۹۹۵). مطالعات فارماکولوژیکی حاکی از آن است که مهارکننده‌های استیل کولین استراز (که میزان استیل کولین را در فضای سیناپسی افزایش می‌دهند) باعث بهبود عملکرد شناختی جوندگان و انسان می‌شوند، در حالی که داروهای آنتی کولینرژیک، حافظه و یادگیری را در مدل‌های مختلف تخریب می‌کنند (زرین دست، بخشا، رستمی و شفقی، ۲۰۰۲). همچنین، مطالعات نشان می‌دهند که عملکرد نورون‌های کولینرژیک در طی یادگیری تغییر می‌کند. این نورون‌ها در طی یادگیری فعال‌تر از حالت استراحت می‌شوند (فادا^{۱۱}، رویسون^{۱۲}، فراتا^{۱۳}، پرتوی^{۱۴} و ریدل^{۱۵}، ۲۰۰۶).

تحقیقات نشان داده‌اند که فعال شدن گیرنده موسکاربینی استیل کولین باعث فعال شدن نورون‌های هرمی و افزایش رهایش گلوتامات در هیپوکامپ می‌شود. فعال شدن این گیرنده‌ها تغییر

شکل سیناپسی و تقویت درازمدت سیناپسی^{۱۶} را در نواحی مختلف مغز تسهیل می‌کند (هاسلمو^{۱۷}، ۱۹۹۹). اسکوپولامین، که آنتاگونیست گیرنده موسکاربینی استیل کولین است، باعث تخریب حافظه در مدل‌های مختلف یادگیری می‌شود. مطالعات نشان می‌دهند که بین نقص حافظه ایجاد شده در بیماران آلزایمری و حیوانات تیمار شده با اسکوپولامین شباهت‌های زیادی وجود دارد؛ به طوری که برای ایجاد مدل حیوانی بیماری آلزایمر در مطالعات فارماکولوژیکی از اسکوپولامین استفاده می‌کنند (بارتوس^{۱۸}، ۲۰۰۰).

سیستم کانابینوئیدی نیز مانند سیستم کولینرژیک می‌تواند حافظه و یادگیری را تحت تأثیر قرار دهد (تیمن^{۱۹}، فلچر^{۲۰}، لدنت^{۲۱}، مولمن^{۲۲} و هاسنورل^{۲۳}، ۲۰۰۷). کانابینوئیدها تأثیرات خود را از طریق سه گیرنده اصلی CB₁، CB₂ و CB₃ (گیرنده‌های غیر CB₁ / CB₂) اعمال می‌کنند (ریبرگ^{۲۴} و همکاران، ۲۰۰۷). مطالعات انجام شده با آزمون‌های رفتاری مختلف (مانند ماز شعاعی، ماز آبی موریس و آزمون حافظه اجتنابی مهارتی) نشان می‌دهند که بیشتر تأثیرات رفتاری آندوکانابینوئیدها به وسیله گیرنده‌های کانابینوئیدی CB₁ میانجی‌گری می‌شود (داولیورا الورس^{۲۵} و همکاران، ۲۰۰۵؛ تیمن و همکاران، ۲۰۰۷).

مدارک زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد کانابینوئیدها می‌توانند رهایش چندین میانجی عصبی را در قسمت‌های مختلف مغز مهار نمایند (شلیکر^{۲۶} و کاتمن^{۲۷}، ۲۰۰۱). کانابینوئیدها، با اثر بر گیرنده‌های کانابینوئیدی، رهایش میانجی‌های مختلف مانند

- | | |
|-------------------------|----------------------------------|
| 1- Shulz | 2- Sosnik |
| 3- Ego | 4- Haidarliu |
| 5- Ahissar | 6- inhibitory avoidance learning |
| 7- Izquierdo | 8- Medina |
| 9- McGaugh | 10- Blokland |
| 11- Fadda | 12- Robinson |
| 13- Fratta | 14- Pertwee |
| 15- Riedel | 16- long-term potentiation |
| 17- Hasselmo | 18- Bartus |
| 19- Thiemann | 20- Fletcher |
| 21- Ledent | 22- Molleman |
| 23- Hasenohl | 24- Ryberg |
| 25- de Oliveira Alvares | 26- Schlicker |
| 27- Kathmann | |

۲-۲۱۲، ۵۵، ۷۱۵۵ WIN در حاملی که ۹۰ درصد آن سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد و ۱۰ درصد باقی مانده دی متیل سولفو کسید بود، حل شد. سرانجام به محلول فوق، یک قطره روغن توئین ۸۰ اضافه شد. اسکوپولامین را بلافاصله قبل از آزمایش‌ها در سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد حل کردند.

ابتدا موش‌های کوچک آزمایشگاهی با کتامین هیدروکلرید^۴ (۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و گزیزین^۵ (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بی‌هوش و سپس در دستگاه استریوتاکیسی قرار داده شدند. پس از آن، بر اساس اطلس پاکسینوس^۶ و فرانکلین^۷ (۲۰۰۱)، دو کانول راهنما (۲۲G)، یک میلی‌متر بالاتر از محل تزریق و به صورت دوطرفه قرار گرفت. مختصات ناحیه CA۱ هیپو کامپ پستی عبارت بود از: $AP = -2$ ، $ML = \pm 1/6$ ، $V = -1/5$. بعد از قرار دادن کانول در مختصات مورد نظر، کانول‌های راهنما با سیمان دندان پزشکی در جای خود محکم شدند. پس از جراحی و قبل از تزریق درون مغزی دارو، به حیوان فرصت داده شد به منظور رفع استرس و تخریب احتمالی بافت بر اثر جراحی، پنج تا هفت روز دوره بهبود^۸ را سپری کرده و به حالت عادی خود برگردد.

آزمون‌های رفتاری

از روش اجتنابی مهاري، برای بررسی حافظه موش‌های کوچک آزمایشگاهی در دو روز متوالی استفاده شد. در روز اول یا روز آموزش^۹، حیوان‌ها در دستگاه تحت آموزش قرار گرفتند و در روز دوم یا روز آزمون^{۱۰}، میزان حافظه حیوان‌های آموزش دیده بررسی شد.

در روش اجتنابی مهاري، مدل Step-down، هر حیوان به آرامی روی سکوی مکعبی دستگاه ارزیابی حافظه قرار می‌گیرد و مدت زمان توقفش روی سکو (قبل از پایین آمدن) ثبت می‌شود. توقف بیش از ۲۰ ثانیه به حذف موش

گلو تامات، استیل کولین، گاما آمینوبوتیریک اسید، دوپامین و نوراپی نفرین را در هیپو کامپ کاهش می‌دهند (ال - هایانی^۱ و دیویس^۲، ۲۰۰۲). با توجه به اثر کانابینوئیدها بر رهایش استیل کولین در هیپو کامپ، حضور گیرنده‌های موسکارتینی و کانابینوئیدی در هیپو کامپ و با در نظر داشتن این نکته که سیستم کانابینوئیدی و گیرنده‌های موسکارتینی یادگیری و حافظه را تحت تأثیر قرار می‌دهند، در این مطالعه برای اولین بار توانایی اسکوپولامین در ایجاد یادگیری وابسته به وضعیت و اثر کانابینوئیدها بر یادگیری وابسته به وضعیت القاشده با اسکوپولامین بررسی شد.

روش

در این آزمایش‌ها که همه در طول روز انجام می‌شد، موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMRI، با وزن تقریبی ۲۲ تا ۳۰ گرم، مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا این حیوانات از انستیتو پاستور ایران به حیوان‌خانه تحقیقاتی انتقال یافتند. قبل از جراحی، یک هفته به موش‌ها فرصت داده شد تا خود را با شرایط جدید تطبیق دهند. موش‌ها به گروه‌های ده تایی تقسیم شدند و در طول آزمایش‌ها آب و غذای کافی در اختیارشان قرار گرفت. دمای حیوان‌خانه بین 22 ± 3 درجه سانتی‌گراد متغیر بود.

دستگاه یادگیری اجتنابی مهاري (غیرفعال)^۳، مدل Step-down، جعبه‌ای است چوبی به ابعاد $40 \times 30 \times 30$ سانتی‌متر که در کف آن ۲۹ میلیه فولادی به قطر $3/0$ سانتی‌متر تعبیه شده است. این میلیه‌ها به فاصله یک سانتی‌متر از یکدیگر قرار گرفته‌اند. در قسمت میانی دستگاه (کف و روی میلیه‌های فلزی) یک سکوی مکعبی چوبی به ابعاد $4 \times 4 \times 4$ سانتی‌متر قرار دارد. این میلیه‌ها به دستگاه تحریک کننده متصل و شوک الکتریکی از طریق آنها به حیوانات آزمایش وارد می‌شود. آزمایش‌ها در اتاق نسبتاً تاریک و ساکت انجام شد.

در این تحقیق، داروهای اسکوپولامین (سیگما، آمریکا) و ۲-۲۱۲، ۵۵، ۷۱۵۵ (تا کریس، آمریکا) مورد استفاده قرار گرفت.

1- Al-Hayani
3- inhibitory (passive) avoidance apparatus
4- ketamine hydrochloride
6- Paxinos
8 - recovery
10- testing day

2- Davies
5- xylazine
7- Franklin
9- training day

زمان توقف حیوان روی سکو در همه آزمایش‌ها، به صورت میانه^۶ و چارک ثبت شد. به علت پاسخ‌های یادگیری بسیار متفاوت حیوانات و همچنین ظرفیت یادگیری هر حیوان، داده‌ها با آنالیز واریانس یک‌طرفه، مخصوص داده‌های غیر پارامتریک (آزمون کروسکال - والیس) و جفت گروه‌ها با آزمون من-ویتی بررسی شدند. در تمام ارزیابی‌های آماری، $p < 0.05$ حداقل معیار معنادار بودن مقایسه گروه‌ها بود. برای محاسبات آماری از نرم‌افزار SPSS و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل استفاده شد.

تیمارهای دارویی و آزمایش‌ها

۱- آزمایش اول- تأثیر تزریق پس از آموزش و پیش از آزمون اسکوپولامین بر حافظه اجتنابی مهاری: در این آزمایش، هفت گروه حیوان به کار رفت. بلافاصله پس از آموزش، به حیوانات گروه اول، سالین، و به سه گروه دیگر مقادیر مختلف اسکوپولامین (۰/۵، ۲ و ۴ میکروگرم/موش) به صورت درون‌مغزی تزریق شد. در روز آزمون، پنج دقیقه قبل از آزمون، تمام گروه‌ها سالین (۱ میکرولیتر/موش) دریافت کردند (شکل ۱). به سه گروه بعدی، بلافاصله پس از آموزش، اسکوپولامین (۲ میکروگرم/موش) به صورت درون‌مغزی و در روز آزمون پنج دقیقه قبل از آزمون، مقادیر مختلف اسکوپولامین (۰/۵، ۲ و ۴ میکروگرم/موش) به صورت درون‌مغزی تزریق شد (شکل ۲).

۲- آزمایش دوم - تأثیر تزریق درون‌مغزی WIN55,212-2، بر حافظه اجتنابی تخریب شده با اسکوپولامین: در این آزمایش هشت گروه حیوان به کار رفت. چهار گروه اول، در روز آموزش به صورت درون‌مغزی، سالین (۱ میکرولیتر/موش) و در روز آزمون (پنج دقیقه قبل از آزمون) مقادیر مختلف

از آزمایش می‌انجامد. حیوان بلافاصله بعد از پایین آمدن از مکعب چوبی و قرار گرفتن پاهایش روی میله‌های فولادی، به مدت ۱۵ ثانیه شوک الکتریکی (۱ هرتز، ۰/۵ ثانیه و ۴۵ ولت مستقیم) دریافت می‌کرد. شوک به وسیله یک محرک به میله‌های فولادی انتقال می‌یافت (هیراماتسو^۱، ساساکی^۲ و کامیاما^۳، ۱۹۹۵). زمان اجرای مراحل آموزش در فاصله ۸ صبح تا ۲ بعد از ظهر بود.

جلسه آزمون ۲۴ ساعت بعد از آموزش، با فرآیندهایی مشابه آموزش انجام شد، با این تفاوت که در این روز شوکی داده نشد. مدت زمان توقف موش روی سکو، به عنوان معیار حافظه موش اندازه‌گیری شد. حداکثر زمان توقف موش روی سکو (زمان سقف^۴) ۳۰۰ ثانیه است (همایون، خاوندگار و زرین‌دست، ۲۰۰۳).

برای تزریق دارو، پس از برداشتن سیم داخل کانول راهنما، سر سوزن ۲۷G دندان پزشکی در داخل کانول راهنمای ۲۲G قرار داده شد. سر سوزن ۹ میلی‌متر طول داشت و به کت‌دان تیوب^۵ نوزاد (شماره ۴) متصل بود. در هر کانول، ۰/۵ میکرولیتر دارو، در مدت ۶۰ تا ۹۰ ثانیه تزریق شد. مجموع حجم تزریق درون‌مغزی به هر موش یک میکرولیتر است. در طول تزریق به حیوان اجازه داده می‌شد بدون هیچ استرسی آزادانه حرکت کند.

پس از کشتن حیوان‌ها با کلروفرم و تزریق ۰/۵ میکرولیتر رنگ متیلن بلو ۱ درصد در داخل هر کانول، مغز از درون مجسمه بیرون آورده و درون فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد. پس از یک هفته، با استفاده از تیغ جراحی، در محل ورود کانول به مغز برش‌هایی داده شد و محل ورود کانول به مغز به وسیله میکروسکوپ لوپ مورد مطالعه قرار گرفت. مقاطع بافتی تهیه‌شده به وسیله اطلس پاکسینوس مطالعه شد. پس از کسب اطمینان از محل قرارگیری کانول‌ها در نواحی مورد نظر، اطلاعات حاصل از حیوان مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

6 - Median
1- Hiramatsu
3- Kameyama
5- cat down tube

2- Sasaki
4- cut-off

آزمون مکمل من - ویتنی نشان داد که تزریق درون مغزی اسکوپولامین (۲ و ۴ میکروگرم/موش) می تواند حافظه تخریب شده را برگرداند .

۲- آزمایش دوم - اثر تزریق درون مغزی ۲- WIN۵۵،۲۱۲ قبل از آزمون، بر حافظه تخریب شده با اسکوپولامین: آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه کروسکال - والیس نشان داد که تزریق پس از آموزش ۲- WIN۵۵،۲۱۲ حافظه را تغییر می دهد ($p < 0/001$)، $14/70 = H(3)$. آزمون مکمل من - ویتنی نشان دهنده آن بود که تزریق درون مغزی ۲- WIN۵۵،۲۱۲ (۰/۵ و ۱ میکروگرم/موش) پس از آموزش، تأخیر در پایین رفتن از سکو یا به اصطلاح میزان حافظه را در ۲۴ ساعت بعد کاهش می دهد. آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه کروسکال - والیس نیز حاکی از آن بود که به کار بردن ۲- WIN۵۵،۲۱۲ قبل از آزمون می تواند حافظه تخریب شده با تزریق بعد از آموزش اسکوپولامین را تغییر دهد ($p < 0/001$)، $17/03 = H(3)$. آزمون مکمل من - ویتنی نشان داد که ۲- WIN۵۵،۲۱۲ (۱ میکروگرم/موش) قادر است حافظه تخریب شده با اسکوپولامین روز آموزش را اصلاح کند.

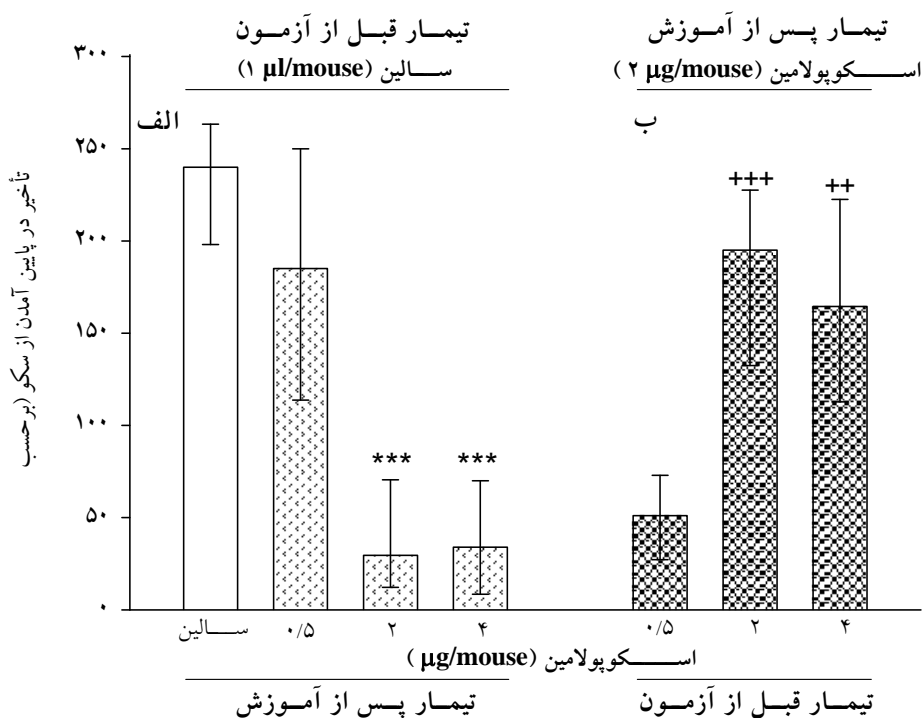
۳- آزمایش سوم - اثر تزریق همزمان مقادیر غیر مؤثر اسکوپولامین و ۲- WIN۵۵،۲۱۲، بر حافظه تخریب شده با اسکوپولامین: آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه کروسکال - والیس نشان داد که کاربرد همزمان مقادیر بی اثر اسکوپولامین و ۲- WIN۵۵،۲۱۲ قبل از آزمون می - تواند حافظه تخریب شده با اسکوپولامین روز آموزش (۲ میکروگرم/موش) را تغییر دهد ($p < 0/001$)، $21/06 = H(3)$. آزمون مکمل من - ویتنی نشان داد که اسکوپولامین (۰/۵ میکروگرم/موش) همراه با ۲- WIN۵۵،۲۱۲ (۰/۲۵ و ۰/۵ میکروگرم/موش) می تواند حافظه تخریب شده با اسکوپولامین روز آموزش را اصلاح کند.

۲- WIN۵۵،۲۱۲ (۰، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میکروگرم/موش) دریافت کردند. به چهار گروه بعدی، بلافاصله پس از آموزش، اسکوپولامین (۲ میکروگرم/موش) و در روز آزمون (پنج دقیقه قبل از آزمون) مقادیر مختلف ۲- WIN۵۵،۲۱۲ (۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میکروگرم/موش) به صورت درون مغزی تزریق شد.

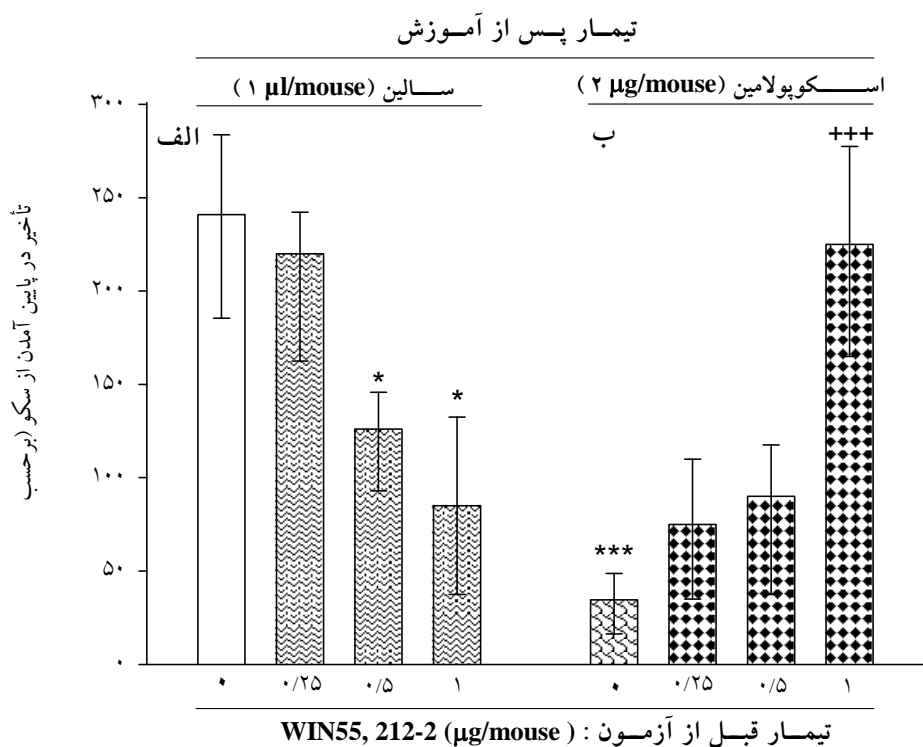
۳- آزمایش سوم - تأثیر تزریق درون مغزی اسکوپولامین و ۲- WIN۵۵،۲۱۲، بر حافظه اجتنابی تخریب شده با اسکوپولامین: در این آزمایش از پنج گروه حیوان استفاده شد. گروه اول در روز آموزش سالین (۱ میکرولیتر/موش) و در روز آزمون سالین همراه با حامل به صورت درون مغزی (intra-CA1) دریافت کرد. به چهار گروه بعدی، بلافاصله پس از آموزش، اسکوپولامین (۲ میکروگرم/موش) و در روز آزمون به ترتیب حامل با سالین؛ ۲- WIN۵۵،۲۱۲ (۰/۵ میکروگرم/موش) با سالین یا اسکوپولامین (۰/۵ میکروگرم/موش) به علاوه ۲- WIN۵۵،۲۱۲ (۰/۲۵ و ۰/۵ میکروگرم/موش) تزریق شد.

یافته ها

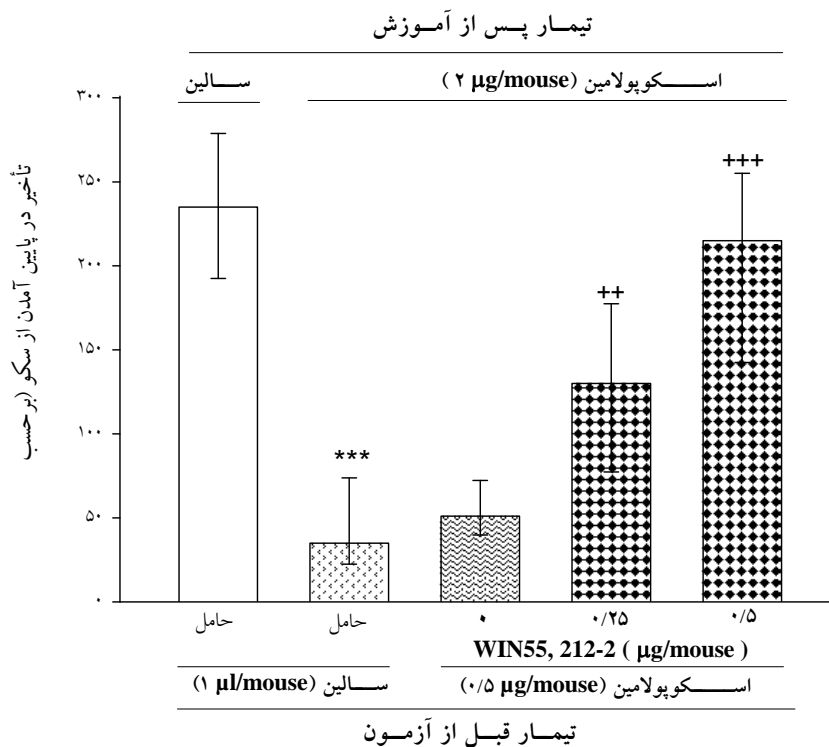
۱- آزمایش اول اثر تزریق پس از آموزش و پیش از آزمون اسکوپولامین بر حافظه اجتنابی مهارتی موش های آزمایشگاهی کوچک: آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه کروسکال - والیس نشان داد که تزریق پس از آموزش اسکوپولامین حافظه را تغییر می دهد ($p < 0/001$)، $22/42 = H(4)$. آزمون مکمل من - ویتنی نشان داد که تزریق درون هیپوکامپی اسکوپولامین (۲ و ۴ میکروگرم/موش) پس از آموزش، تأخیر در پایین آمدن از سکو یا به اصطلاح میزان حافظه را در ۲۴ ساعت بعد کاهش می دهد. به علاوه، استفاده از مقادیر مختلف اسکوپولامین پنج دقیقه قبل از آزمون، توانست حافظه تخریب شده با اسکوپولامین روز آموزش را بهبود ببخشد ($p < 0/001$)، $21/64 = H(3)$.



شکل ۱- اثر اسکوپولامین روز آموزش بر حافظه اجتنابی مهارتی (پانل - الف) و اثر اسکوپولامین روز آزمون بر حافظه اجتنابی مهارتی تخریب شده با اسکوپولامین روز آموزش (پانل - ب). $p < 0.001$ (***) در مقایسه با گروه سالین / سالین و $p < 0.001$ (***), $p < 0.01$ (**) در مقایسه با اسکوپولامین / سالین می باشد.



شکل ۲- اثر تزریق پیش از آزمون WIN55,212-2 بر حافظه اجتنابی تخریب شده با اسکوپولامین $p < 0.001$ (***)، $p < 0.05$ (*) در مقایسه با گروه سالین / حامل و $p < 0.001$ (***) در مقایسه با اسکوپولامین / سالین می باشد.



شکل ۳- اثر تزریق همزمان اسکوپولامین و ۲-۲۱۲،۵۵۵ WIN در روز آزمون بر حافظه تخریب شده توسط اسکوپولامین. $p < 0.001$ در مقایسه با گروه سالین / حامل به علاوه سالین و $p < 0.01$ ، $+++p < 0.001$ در مقایسه با اسکوپولامین / حامل به علاوه سالین می باشد.

کولینرژیک ارتباط دارد. بسیاری از مطالعات رفتاری نشان داده- اند که تأثیرات آنتاگونیست موسکارینی کولینرژیک، بسیار شبیه تأثیرات ناشی از تخریب هیپوکامپ است (واتس^۱، استیونز^۲ و روبینسون، ۱۹۸۱).

نتایج ما همچنین نشان می دهند که فراموشی القاشده با تزریق پس از آموزش اسکوپولامین به هیپوکامپ پستی، با تزریق همان مقدار اسکوپولامین قبل از آزمون کاملاً مهار می شود. مشابه این پاسخ، برای مورفین (زرین دست و رضایوف، ۲۰۰۴)، لیتیم (زرین دست و همکاران، ۲۰۰۸) و هیستامین (زرین دست و همکاران، ۲۰۰۵) وجود دارد که به آن یادگیری وابسته به وضعیت می گویند.

نتیجه گیری

از روش اجتنابی مهارى (غیر فعال) با مدل Step-down برای بررسی حافظه موش های کوچک آزمایشگاهی استفاده می شود. یافته های این مطالعه نشان می دهد که تزریق پس از آموزش آنتاگونیست غیر اختصاصی گیرنده های موسکارینی، اسکوپولامین، به هیپوکامپ پستی موش های کوچک آزمایشگاهی به تخریب حافظه اجتنابی مهارى در روز آزمون می انجامد. نتایج مطالعات حاضر همسو با مطالعاتی است که گزارش می دهد استیل کولین میانجی عصبی مهم در زمینه حافظه و یادگیری است (بوکلند، ۱۹۹۵).

مطالعات فارماکولوژیکی نشان می دهند که اسکوپولامین باعث تخریب حافظه و یادگیری در مدل های مختلف یادگیری می شود و این تخریب مستقیماً با کاهش عملکرد سیستم

1- Watts

2- Stevens

بستگی دارد. به طوری که ممکن است داروهایی که باعث تخریب حافظه حیوانات دارای حافظه کامل می شود، باعث تقویت حافظه حیواناتی شود که قبلاً حافظه آنها با داروی دیگری تخریب شده است (یانگ^۱ و همکاران، ۲۰۰۳). اگر برداشت فوق درست باشد، با توجه به این که آگونیست های گیرنده های کانابینوئیدی (مانند WIN55,212-2)، باعث تخریب حافظه حیوانات با حافظه کامل می شود (دیویز^۲، پرتوی و ریدل، ۲۰۰۲)، این احتمال وجود دارد که تزریق آن در روز آزمون باعث بهبود حافظه موش هایی شود که حافظه آنها با تزریق اسکوپولامین در روز آموزش تخریب شده است.

با توجه به بازگشت حافظه تخریب شده با اسکوپولامین به وسیله WIN55,212-2، می توان بیان داشت که بین سیستم کانابینوئیدی و گیرنده های موسکارینی استیل کولین هیپوکامپ پستی در زمینه حافظه اجتنابی مهارت برهم کنش وجود دارد و آگونیست گیرنده کانابینوئیدی قادر است اثر آنتاگونیست غیراختصاصی موسکارینی اسکوپولامین را تقلید کند.

یافته های ما حاکی از آن است که حافظه تخریب شده با تزریق پس از آموزش اسکوپولامین، با تزریق پیش از آزمون WIN55,212-2، دوباره به حالت عادی بر می گردد. این نتایج نشان می دهند که WIN55,212-2 روز آزمون، اثر اسکوپولامین روز آزمون را تقلید می کند و باعث بهبود حافظه تخریب شده با اسکوپولامین روز آموزش می شود. به علاوه، استفاده از مقادیر غیر مؤثر WIN55,212-2، همراه با مقدار غیر مؤثر اسکوپولامین در روز آزمون، حافظه تخریب شده با اسکوپولامین روز آموزش را بهبود می بخشد. به عبارت دیگر، اسکوپولامین و WIN55,212-2 می توانند به صورت سینرژیک باعث بازگشت حافظه تخریب شده با اسکوپولامین شوند. با توجه به این که یادگیری وابسته به وضعیت پدیده ای است که در آن به خاطر آوری اطلاعات یادگیری شده فقط در شرایطی امکان پذیر است که حیوان در همان شرایطی قرار بگیرد که در موقع آموزش قرار داشته است (شولز و همکاران، ۲۰۰۰)، این احتمال وجود دارد که WIN55,212-2 و اسکوپولامین با استفاده از سازوکارهای مختلف شرایط فیزیولوژیک یکسان ایجاد نمایند.

توضیح دیگری که برای بازگشت حافظه تخریب شده با اسکوپولامین روز آموزش به وسیله WIN55,212-2 روز آزمون وجود دارد، این است که اثر داروهایی که در روز آزمون و قبل از آزمون حافظه به حیوان تزریق می شود، در تمامی شرایط یکسان نیست و به شرایطی که اطلاعات در آن ذخیره شده است،

دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۱۰/۱۷؛ پذیرش مقاله: ۱۳۸۹/۱/۱۹

1- Yang

2- Davies

منابع

Al-Hayani, A., & Davies, S. N. (2002). Effect of cannabinoids on synaptic transmission in the rat hippocampal slice is temperature-dependent. *European Journal of Pharmacology*, 442(1-2), 47-54.

Bartus, R. T. (2000). On neurodegenerative diseases, models, and treatment strategies: Lessons learned and lessons forgotten a generation following the cholinergic hypothesis. *Experimental Neurology*, 163(2), 495-529.

Blokland, A. (1995). Acetylcholine: A neurotransmitter for learning and memory? *Brain Research Reviews*, 21(3), 285-300.

Davies, S. N., Pertwee, R. G., & Riedel, G. (2002). Functions of cannabinoid receptors in the hippocampus. *Neuropharmacology*, 42(8), 993-1007.

de Oliveira Alvares, L., de Oliveira, L. F., Camboim, C., Diehl, F., Genro, B. P., Lanziotti, V. B., & Quillfeldt, J. A. (2005). Amnesic effect of intrahippocampal AM251, a CB1-selective blocker, in the inhibitory avoidance, but not in the open field habituation task, in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, 83(2), 119-124.

- Fadda, P., Robinson, L., Fratta, W., Pertwee, R. G., & Riedel, G. (2006). Scopolamine and MK801-induced working memory deficits in rats are not reversed by CBD-rich cannabis extracts. *Behavioural Brain Research*, 168(2), 307-311.
- Hasselmo, M. E. (1999). Neuromodulation: Acetylcholine and memory consolidation. *Trends in Cognitive Sciences*, 3(9), 351-359.
- Hiramatsu, M., Sasaki, M., & Kameyama, T. (1995). Effects of dynorphin A-(1-13) on carbon monoxide-induced delayed amnesia in mice studied in a stepdown type passive avoidance task. *European Journal of Pharmacology*, 282(1-3), 185-191.
- Homayoun, H., Khavandgar, S., & Zarrindast, M. R. (2003). Morphine state-dependent learning: Interactions with α_2 -adrenoceptors and acute stress. *Behavioural Pharmacology*, 14(1), 41-48.
- Izquierdo, I., & Medina, J. H. (1997). Memory formation: The sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures. *Neurobiology of Learning and Memory*, 68(3), 285-316.
- McGaugh, J. L., & Izquierdo, I. (2000). The contribution of pharmacology to research on the mechanisms of memory formation. *Trends in Pharmacological Sciences*, 21(6), 208-210.
- Paxinos, G., & Franklin, K. B. J. (2001). *The mouse brain in stereotaxic coordinates*. San Diego: Academic Press.
- Ryberg, E., Larsson, N., Sjogren, S., Hjorth, S., Hermansson, N. O., Leonova, J., Elebring, T., Nilsson, K., Drmota, T., & Greasley, P. J. (2007). The orphan receptor GPR55 is a novel cannabinoid receptor. *British Journal of Pharmacology*, 152(7), 1092-1101.
- Schlicker, E., & Kathmann, M. (2001). Modulation of transmitter release via presynaptic cannabinoid receptors. *Trends Pharmacological Sciences*, 22(11), 565-572.
- Shulz, D. E., Sosnik, R., Ego, V., Haidarliu, S., & Ahissar, E. (2000). A neuronal analogue of state-dependent learning. *Nature*, 403(6769), 549-553.
- Thiemann, G., Fletcher, B. C., Ledent, C., Molleman, A., & Hasenohrl, R. U. (2007). The genetic versus pharmacological invalidation of the cannabinoid CB₁ receptor results in differential effects on 'non-associative' memory and forebrain monoamine concentrations in mice. *Neurobiology of Learning Memory*, 88(4), 416-423.
- Watts, J., Stevens, R., & Robinson, C. (1981). Effects of scopolamine on radial maze performance in rats. *Physiology and Behaviour*, 26(5), 845-851.
- Yang, Y., Cao, J., Xiong, W., Zhang, J., Zhou, Q., Wei, H., Liang, C., Deng, J., Li, T., Yang, S., & Xu, L. (2003). Both stress experience and age determine the impairment or enhancement effect of stress on spatial memory retrieval. *Journal of Endocrinology*, 178(1), 45-54.
- Zarrindast, M. R., Bakhsha, A., Rostami, P., & Shafaghi, B. (2002). Effects of intrahippocampal injection of GABAergic drugs on memory retention of passive avoidance learning in rats. *Journal of Psychopharmacology*, 16(4), 313-319.
- Zarrindast, M. R., Fazli-Tabaei, S., Khalilzadeh, A., Farahmanfar, M., & Yahyavi, S. H. (2005). Cross state-dependent retrieval between histamine and lithium. *Physiology and Behaviour*, 86(1-2), 154-163.
- Zarrindast, M. R., Madadi, F., & Ahmadi, S. (2008). Repeated administrations of dopamine receptor agents affect lithium-induced state-dependent learning in mice. *Journal of Psychopharmacology*, 23(6), 645-651.
- Zarrindast, M. R., & Rezayof, A. (2004). Morphine state-dependent learning: Sensitization and interactions with dopamine receptors. *European Journal of Pharmacology*, 497(2), 197-204.