



## بررسی اثر آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های گیرنده‌های آلفا-۱ و آلفا-۲-آدرنژیک در ناحیه

### هیپوکامپ پستی بر روی یادگیری وابسته به وضعیت کانابینوئیدها

اعظم مشفق<sup>۱</sup>، پروین بابایی<sup>۲</sup>، مرتضی پیری<sup>۳\*</sup>، شهربانو عریان<sup>۱</sup>، بهرام سلطانی<sup>۲</sup>، محمدرضا زرین دست<sup>۴</sup>

#### چکیده

به ناحیه CA1 ۲ دقیقه قبل از WIN55,212-2، جلوی پیشرفت حافظه با WIN55,212-2 روز آزمون را می‌گیرد. این مشاهدات نشان می‌دهد که گیرنده‌های آلفا - آدرنژیک ناحیه CA1 هیپوکامپ نقش مهمی در فراموشی القاء شده با کانابینوئیدها و یادگیری وابسته به وضعیت کانابینوئیدها دارند.

**کلمات کلیدی:** کانابینوئیدها، گیرنده‌های آلفا - آدرنژیک، هیپوکامپ پستی، حافظه اجتناب مهاری، یادگیری وابسته به وضعیت

#### مقدمه

کانابینوئیدها ترکیبات موجود در گیاه شاهدانه و آنالوگ‌های صنعتی از مشتقات اسیدهای چرب به ویژه اسید آراشیدونیک می‌باشند. هزاران سال است که حشیش و ماری‌جوانا که هر دو از گیاه شاهدانه هندی با نام علمی *Cannabis sativa* بدست می‌آیند به علت آثار دارویی و نیز مقلد حالات روانی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. کانابینوئیدها اثرات خود را از طریق سه گیرنده اصلی به نام‌های CB1، CB2 و CB3 (گیرنده‌های غیر CB1 / CB2) اعمال می‌نمایند [۱۷]. مطالعات صورت گرفته با تست‌های رفتاری مختلف مانند ماز شعاعی، ماز آبی موریس و تست حافظه اجتنابی مهاری نشان می‌دهد که بیشتر اثرات رفتاری آندوکانابینوئیدها توسط گیرنده‌های کانابینوئیدی CB1 میانجی‌گری می‌شود [۲۱]. باید توجه داشت که کانابینوئیدهای درون‌زاد علاوه بر اثر بر روی گیرنده‌های کانابینوئیدی می‌توانند مستقیماً بر روی برخی از گیرنده‌های غیر کانابینوئیدی اثر کرده و عملکرد آنها را

کانابینوئیدها دسته‌ای از ترکیبات مقلد حالات روانی می‌باشند که اثرات متنوعی را در گونه‌های مختلف ایجاد می‌نمایند. در این مطالعه نقش گیرنده‌های آلفا - ۱ و آلفا - ۲ آدرنژیک هیپوکامپ پستی بر روی فراموشی القاء شده با کانابینوئیدها و یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با کانابینوئیدها مورد بررسی قرار گرفته است. بعد از کانول گذاری دو طرفه در ناحیه CA1 هیپوکامپ پستی، در دستگاه یادگیری اجتنابی مدل step-down آموزش دیدند و ۲۴ ساعت بعد از آموزش تاخیر در پایین آمدن از سکو اندازه‌گیری شد. تزریق پس از آموزش آگونیست گیرنده کانابینوئیدی، WIN55,212-2 ( $0/5 \mu\text{g}/\text{rat}$ ،  $0/25$ ) به ناحیه CA1 باعث القاء فراموشی می‌شود. فراموشی ایجاد شده با تزریق بعد از آموزش WIN55,212-2 ( $0/5 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) با تزریق همان مقدار WIN55,212-2 قبل از آزمون برمی‌گردد. تزریق قبل از آزمون فینیل‌افرین تأثیری بر روی حافظه ندارد، اما کلونیدین می‌تواند باعث بهبود حافظه تخریب شده با WIN55,212-2 شود. بعلاوه تزریق فینیل‌افرین یا کلونیدین به همراه دوز غیر موثر WIN55,212-2 به صورت سینرژیک باعث اصلاح فراموشی القاء شده با WIN55,212-2 می‌شود. از طرف دیگر تزریق قبل از آزمون پرازوسین یا یوهمبین

\*- نویسنده مسئول مکاتبات (biopiri@yahoo.com)

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات  
۲- مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان  
۳- گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل  
۴- گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی و مرکز ملی مطالعات اعتیاد، دانشگاه علوم پزشکی تهران



## مواد و روش کار

### جانوران مورد آزمایش

در این مطالعه تجربی از موش صحرایی نر نژاد ویستار (وزن تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ گرم) که از انستیتو پاستور ایران تهیه می شد استفاده گردید. در طول آزمایش ها آب و غذای کافی در اختیار موش ها قرار گرفت و دمای حیوانخانه بین  $22 \pm 3$  درجه سانتیگراد متغیر بود. موش ها در گروه های هشت تایی قرار داده شد و همه آزمایش ها در طول روز بین ساعت ۸ الی ۱۴ انجام شد.

### دستگاه یادگیری اجتنابی مدل Step-down

دستگاه یادگیری اجتنابی مهاری (غیر فعال)<sup>۱</sup>، مدل Step-down، جعبه چوبی به ابعاد (۴۰×۳۰×۴۰cm) می باشد. کف دستگاه دارای میله های فولادی با قطر ۰/۳ سانتی متر و به فاصله ۱ سانتی متر از یکدیگر می باشد. این میله ها به دستگاه تحریک کننده متصل شده و شوک الکتریکی از طریق این میله ها به حیوانات مورد آزمایش وارد می شود. یک سکوی مکعبی چوبی به ابعاد (۱۲×۱۰×۷ cm) نیز در گوشه چپ کف دستگاه (روی میله های فلزی) قرار دارد که در طی آزمایشات جانوران به آرامی در روی این سکو قرار می گیرند. آزمایش ها در اتاق نسبتاً تاریک و بدون سر و صدا انجام می شود.

### داروها

داروهای مورد استفاده در این تحقیق عبارت بودند از آگونیست گیرنده کانابینوئیدی، WIN55, 212-2 (تاکریس، آمریکا)، فنیل افرین (آگونیست گیرنده آلفا - ۱ آدرنرژیک)، کلونیدین (آگونیست گیرنده آلفا - ۲ آدرنرژیک)، پرازوسین (آنتاگونیست گیرنده آلفا - ۱ آدرنرژیک) و یوهیمین (آنتاگونیست گیرنده آلفا - ۲ آدرنرژیک) (سیگما، آمریکا) که بلافاصله قبل از آزمایش ها داروهای فنیل افرین، پرازوسین، کلونیدین و یوهیمین در سرم فیزیولوژیک استریل ۰/۹ درصد حل گردید

تحت تاثیر قرار دهند، گزارشات نشان می دهند که آندوکانابینوئیدها می توانند عملکرد گیرنده های اپیوئیدی [۱۶]، سروتونینی [۲]، نیکوتینی [۱۳] و گیرنده های NMDA [۷] را با برهمکنش مستقیم با این گیرنده ها تحت تاثیر قرار دهند. علاوه بر برهمکنش مستقیم کانابینوئیدها با گیرنده های کانابینوئیدی و برخی دیگر از گیرنده ها، مدارکی وجود دارد که نشان می دهد کانابینوئیدها رهایش چندین میانجی عصبی را در سرتاسر مغز کاهش می دهند [۱۸]. مطالعاتی که بر روی هیپوکامپ صورت گرفته است نشان می دهد که کانابینوئیدها از طریق فعال نمودن گیرنده های پیش سیناپسی CB1 آزادسازی نوروترانسمیترهای مختلف مانند گلوتامات، استیل کولین، گابا، اپیوئیدها و نورآدرنالین را کاهش می دهند [۱]. نورون های بالارو سیستم نورآدرنرژیک از لوکوس سرولئوس منشأ می گیرند و نواحی مختلف مغز از جمله هیپوکامپ و کورتکس را عصب دهی می نمایند. مدارک زیادی وجود دارد که نشان می دهد نورآدرنالین و گیرنده های نورآدرنرژیک در یادگیری و حافظه نقش دارند، به عنوان نمونه زمانی که نورآدرنالین به داخل نواحی مختلف مغز از جمله هیپوکامپ، کورتکس اتورینال و آمیگدال تزریق می شوند شکل گیری حافظه را تقویت می نمایند [۴]. همچنین نورآدرنالین بر روی بسیاری از فرآیندهای مرکزی که تحت تاثیر کانابینوئیدها قرار می گیرد اثر می گذارد. مشخص شده سیستم نورآدرنرژیک مرکزی در پایین آمدن دما در هنگام مصرف کانابینوئیدها دخیل می باشد [۲۰]. به علاوه تخریب ناحیه لوکوس سرولئوس به صورت معنی داری اثرات کاتالپتیکی، کانابینوئیدها را کاهش می دهد [۹].

بر اساس یافته های فوق، در این مطالعه برای اولین بار اثر تزریق دو طرفه ی آگونیست ها و آنتاگونیست های گیرنده های آلفا-۱ و آلفا-۲ آدرنرژیک بر روی فراموشی القاء شده با کانابینوئیدها و یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با کانابینوئیدها مورد بررسی قرار گرفته است.

1 - inhibitory (passive) avoidanse apparatus



### مرحله آزمون یا بررسی حافظه

جلسه آزمون ۲۴ ساعت بعد از آموزش، مشابه آموزش انجام می‌شود به جز اینکه شوکی در این روز دریافت نمی‌گردد. مدت زمان توقف موش بر روی سکو در روز آزمون به عنوان معیار حافظه در موش اندازه‌گیری می‌شود که حداکثر زمان برای توقف موش روی سکو (زمان سقف cut-off) برابر با ۳۰۰ ثانیه می‌باشد. موش‌هایی که دارای حافظه می‌باشند شوک روز قبل را به یاد می‌آورند، بنابراین مدت طولانی در روی سکو باقی می‌مانند که توقف ۳۰۰ ثانیه به عنوان حافظه کامل در نظر گرفته می‌شود. بالعکس حیواناتی که به دلیل دریافت دارو بعد از آموزش دچار فراموشی شده‌اند، شوک روز آموزش را به یاد نمی‌آورند و به دلیل هراس ذاتی از ارتفاع فوراً از سکو پایین می‌آیند.

### تزریق درون مغزی دارو

برای تزریق دارو پس از برداشتن سیم داخل کانول راهنما، سر سوزن ۲۷ G دندانپزشکی که ۱۱ میلی‌متر طول داشت و به کت دان تیوب<sup>۱۰</sup> نوزاد (شماره ۴) متصل بود، در داخل کانول راهنما ۲۲ G قرار داده شده، در کانول ۰/۵ میکرولیتر دارو در مدت ۶۰ ثانیه تزریق می‌شد. در طول تزریق به حیوان اجازه داده می‌شد بدون هیچ استرسی آزادانه حرکت کند.

### بافت شناسی

پس از کشتن حیوان‌ها توسط کلروفورم با تزریق رنگ متیلن بلو ۱٪ (۰/۵ Iµ) به درون هرکانول، مغز از درون مجموعه بیرون آورده شده و درون فرمالین ۱۰ درصد قرار می‌گرفت. پس از یک هفته با استفاده از تیغ جراحی در محل ورود کانول به درون مغز برش‌هایی داده شده، محل ورود کانول به مغز به وسیله میکروسکوپ لوپ مورد مطالعه قرار گرفت. جهت مطالعه مقاطع بافتی تهیه شده، از اطلس پاکسینوس استفاده شد. پس از کسب اطمینان از محل قرارگیری کانول‌ها در نواحی

و داروی WIN55, 212-2 در محلول حاملی<sup>۲</sup> حل شد که ۹۰ درصد آن سرم فیزیولوژیک استریل ۰/۹ درصد و ۱۰ درصد باقی مانده آن دی‌متیل سولفوکسید<sup>۳</sup> بود که سرانجام به محلول فوق یک قطره روغن توئین<sup>۴</sup> ۸۰ اضافه می‌شد. روش جراحی و کانول‌گذاری در ناحیه پستی هیپوکامپ (CA1) موش‌های صحرایی توسط تزریق کتامین هیدروکلراید<sup>۵</sup> (۵۰ mg/kg) و بعلاوه زیلزین<sup>۶</sup> (۴ mg/kg) بی‌هوش شدند. بعد از بی‌هوشی حیوانات در دستگاه استریوتاکسی قرار داده شده و دو کانول راهنمای (۲۲ G)<sup>۷</sup> به صورت دو طرفه بر اساس اطلس پاکسینوس و واتسون (۱۹۹۷) در هیپوکامپ پستی قرار داده شد. مختصات ناحیه CA1 هیپوکامپ پستی برابر (AP = -۳/۲، ML = ±۲، V = -۳) می‌باشد [۱۴]. روش اجتنابی مهارتی برای بررسی حافظه در موش‌های صحرایی در دو روز متوالی انجام می‌شود. روز اول یا روز آموزش<sup>۸</sup> شامل آموزش دادن حیوان‌ها در دستگاه بود و در روز دوم یا روز آزمون<sup>۹</sup> میزان حافظه حیوان‌های آموزش دیده بررسی می‌شود.

### مرحله آموزش

در روش اجتنابی مهارتی مدل step-down، هر حیوان به آرامی روی سکوی مکعبی دستگاه ارزیابی حافظه قرار می‌گیرد و مدت زمان توقف روی سکو (قبل از پایین آمدن) ثبت می‌شود. بلافاصله بعد از پایین آمدن موش از مکعب چوبی و قرار گرفتن چهار پای موثر بر روی میله‌های فولادی به مدت ۵ ثانیه شوک الکتریکی با شدت یک میلی‌آمپر توسط حیوان دریافت می‌شود. بلافاصله بعد از اتمام شوک حیوانات از دستگاه یادگیری اجتنابی خارج می‌شدند و تزریق بعد از آموزش را دریافت می‌کردند.

- 2- vehicle
- 3- dimethylsulfoxide
- 4- tween80
- 5- ketamine hydrochloride
- 6- xylazine
- 7- gauge
- 8- training day
- 9- testing day

10- cat down tube



مورد نظر اطلاعات حاصل از حیوان مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

### تجزیه و تحلیل آماری

نمره حافظه هر گروه به صورت میانگین و انحراف معیار استاندارد ( $Mean \pm S.E.M$ ) ثبت گردید. به منظور تعیین وجود اختلاف معنا دار بین گروه ها آزمایش، از روش تحلیل واریانس یک طرفه<sup>11</sup> و آزمون توکی<sup>12</sup> استفاده گردید. برای انجام محاسبات آماری از نرم افزار SPSS و رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

### تیمارهای دارویی و آزمایش های انجام شده

۱- آزمایش اول: بررسی تاثیر تزریق WIN55, 212-2 بر روی حافظه اجتنابی مهاري.

شش گروه حیوان در این آزمایش به کار رفت. گروه اول بلافاصله پس از آموزش سالیان و گروه دوم حامل را به صورت درون مغزی (intra-CA1) دریافت کردند. دو گروه باقی مانده مقادیر مختلف WIN55, 212-2 ( $0.5 \mu\text{g}/\text{rat}$ )، ( $0.25$ ) را بلافاصله پس از آموزش به صورت درون مغزی (intra-CA1) دریافت کردند، در روز آزمون این گروه ها، ۵ دقیقه قبل از قبل از آزمون سالیان ( $1 \mu\text{l}/\text{rat}$ ) یا حامل دریافت داشتند. دو گروه باقیمانده بلافاصله بعد از آموزش WIN55, 212-2 ( $0.5 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) را دریافت کردند و در روز آزمون مقادیر مختلف WIN55, 212-2 ( $0.5 \mu\text{g}/\text{rat}$ )، ( $0.25$ ) را ۵ دقیقه قبل از آزمون به صورت درون مغزی (intra-CA1) دریافت کردند (نمودار ۱).

۲- آزمایش دوم: بررسی تاثیر تزریق درون مغزی فنیل افرین بر حافظه اجتنابی تخریب شده ناشی از کانابینوئیدها.

در این آزمایش هفت گروه حیوان به کار رفت. گروه اول سالیان را بلافاصله بعد از آموزش و پنج دقیقه قبل از آزمون

دریافت نمود. شش گروه باقیمانده بلافاصله بعد از آموزش WIN55, 212-2 ( $0.5 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) را دریافت کردند و در روز آزمون مقدار غیر موثر WIN55, 212-2 ( $0.25 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) یا مقادیر مختلف فنیل افرین ( $0.30$ ،  $0.15 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) و یا مقدار غیر موثر WIN55, 212-2 ( $0.25 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) به همراه مقادیر مختلف فنیل افرین ( $0.30$ ،  $0.15 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) را پنج دقیقه قبل از آزمون به صورت درون مغزی (intra-CA1) دریافت داشتند (نمودار ۲).

۳- آزمایش سوم: بررسی تاثیر تزریق درون مغزی کلونیدین بر حافظه اجتنابی تخریب شده ناشی از کانابینوئیدها.

در این آزمایش هفت گروه حیوان به کار رفت. گروه اول سالیان را بلافاصله بعد از آموزش و پنج دقیقه قبل از آزمون دریافت نمود. شش گروه باقیمانده بلافاصله بعد از آموزش WIN55, 212-2 ( $0.5 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) را دریافت کردند و در روز آزمون مقدار غیر موثر WIN55, 212-2 ( $0.25 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) یا مقادیر مختلف کلونیدین ( $0.50$ ،  $0.25 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) و یا مقدار غیر موثر WIN55, 212-2 ( $0.25 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) به همراه مقادیر مختلف کلونیدین ( $0.50$ ،  $0.25 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) را پنج دقیقه قبل از آزمون به صورت درون مغزی (intra-CA1) دریافت داشتند (نمودار ۳).

۴- آزمایش چهارم: بررسی تاثیر تزریق درون مغزی پرازوسین و یوهمبین بر یادگیری وابسته به وضعیت کانابینوئیدها.

در این آزمایش پنج گروه حیوان به کار رفت. تمامی گروه ها در روز آموزش WIN55, 212-2 ( $0.5 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) را بلافاصله بعد از آموزش دریافت کردند. در روز آزمون، یکی از گروه ها سالیان بعلاوه WIN55, 212-2 ( $0.5 \mu\text{g}/\text{rat}$ )، دو گروه دیگر مقادیر مختلف پرازوسین ( $1$ ،  $0.5 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) بعلاوه WIN55, 212-2 ( $0.5 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) و دو گروه باقیمانده مقادیر مختلف یوهمبین ( $0.5$ ،  $0.25 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) بعلاوه WIN55, 212-2 ( $0.5 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) را به صورت درون مغزی (intra-CA1) پنج دقیقه قبل از آزمون دریافت داشتند (نمودار ۴).

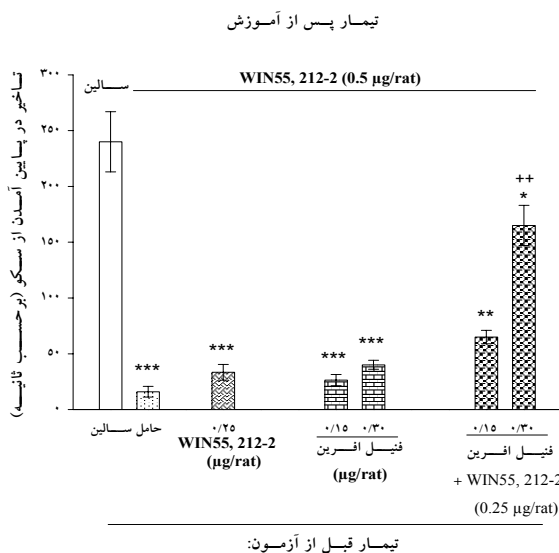
11- ANOVA  
12- Tukey's test

## نتایج

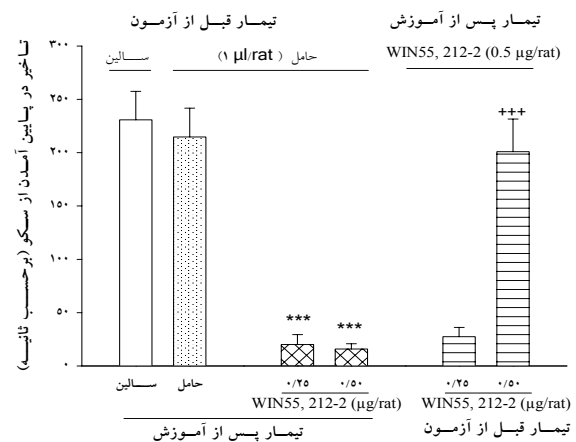
۱- آزمایش اول: اثر WIN55, 212-2 بر روی حافظه اجتنابی مهاری.

آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که تزریق پس از آموزش WIN55, 212-2 حافظه را تغییر می‌دهد [  $F(3, 28) = 31.26, p < 0.001$  ]. انجام آزمون مکمل توکی نشان داد که تزریق پس از آموزش WIN55, 212-2 (intra-CA1)  $0.5$  و  $0.25$   $\mu\text{g}/\text{rat}$  تاخیر پایین آمدن از سکو، یا به اصطلاح میزان حافظه را در ۲۴ ساعت بعد کاهش داد. بعلاوه بکار بردن WIN55, 212-2 قبل از آزمون قادر به بهبود حافظه تخریب شده با WIN55, 212-2 روز آ آموزش می‌باشد [  $F(2, 21) = 30.17, p < 0.001$  ]. آزمون مکمل توکی نشان داد که WIN55, 212-2 ( $0.5 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) قادر به بازگرداندن حافظه تخریب شده می‌باشد.

بکار رفته در این آزمایش و مقدار غیر موثر WIN55, 212-2 ( $0.25 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) به تنهایی قبل از آزمون قادر به اصلاح حافظه تخریب شده با WIN55, 212-2 ( $0.5 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) روز آموزش نمی‌باشد و حافظه گروه‌های دریافت‌کننده این داروها تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل دارد [  $p < 0.001, F(6, 49) = 17.34$  ]. اما مقادیر غیر موثر فنیل‌افرین ( $0.30, 0.15$ )  $\mu\text{g}/\text{rat}$  همراه مقدار غیر موثر WIN55, 212-2 ( $0.25 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) می‌تواند حافظه تخریب شده با WIN55, 212-2 ( $0.5 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) روز آموزش را اصلاح نماید [  $F(5, 42) = 6.25, p > 0.01$  ].



نمودار ۲- اثر فنیل‌افرین بر حافظه اجتنابی تخریب شده با WIN55, 212-2. در مقایسه با گروه سالیان و حامل  $p < 0.001$  \*\*\* در مقایسه با WIN55, 212-2 ( $0.5 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) / حامل می‌باشد.

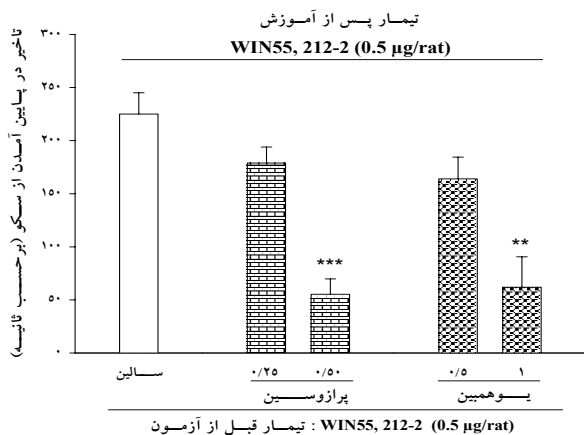


نمودار ۱- اثر تزریق پس از آموزش و پیش از آموزش WIN55, 212-2 بر حافظه اجتنابی مهاری.  $p < 0.001$  \*\*\* در مقایسه با گروه سالیان / سالیان و  $p < 0.001$  +++ در مقایسه با حامل / WIN55, 212-2 ( $0.5 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) می‌باشد.

۳- آزمایش سوم: نتایج تزریق درون مغزی کلونیدین قبل از آزمون بر روی حافظه تخریب شده توسط کانابینوئیدها. آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون مکمل توکی نشان داد که بکار بردن کلونیدین ( $0.25 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) و مقدار غیر موثر WIN55, 212-2 ( $0.25 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) به تنهایی قبل از آزمون قادر به اصلاح حافظه تخریب شده با WIN55, 212-2 ( $0.5 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) روز آموزش نمی‌باشد و حافظه گروه‌های دریافت‌کننده این داروها تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل

۲- آزمایش دوم: نتایج تزریق درون مغزی فنیل‌افرین قبل از آزمون بر روی حافظه تخریب شده توسط کانابینوئیدها. آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون مکمل توکی نشان داد که فنیل‌افرین ( $0.30, 0.15$ )  $\mu\text{g}/\text{rat}$  در مقادیر

یوهمیین ( $1 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) می تواند یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با WIN55, 212-2 را مهار می نماید .

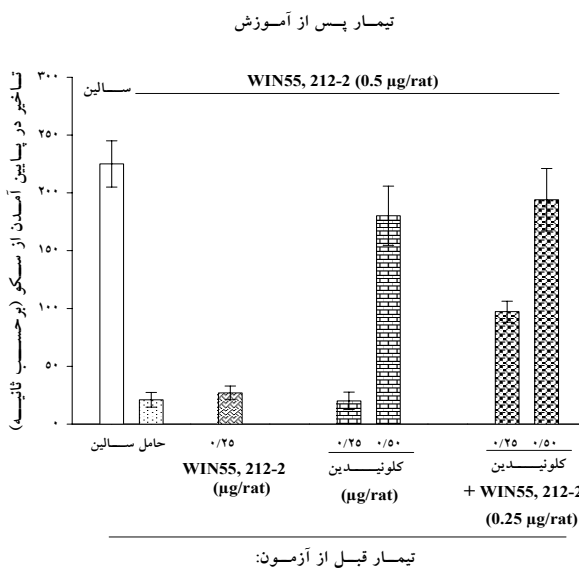


نمودار ۴ - اثر پرازوسین و یوهمیین بر روی یادگیری وابسته به وضعیت WIN55, 212-2.  $***P < 0.001$ ،  $**P < 0.01$  در مقایسه با گروه WIN55, 212-2 ( $0.5 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) / WIN55, 212-2 ( $0.5 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) می باشد.

### بحث

نتایج بدست آمده در این تحقیق نشان می دهد که تزریق بعد از آموزش آگونیست غیر اختصاصی گیرنده های کانابینوئیدی WIN55, 212-2، به صورت درون مغزی در هیپوکامپ خلفی باعث تخریب حافظه می شود. نتایج بدست آمده در این مطالعه هماهنگ با گزارشاتی می باشند که نشان می دهند تزریق WIN55,212-2 یا مهار کننده ی ناقل غشایی آندوکانابینوئیدها، VDM-11 بلافاصله بعد از آموزش باعث کاهش حافظه ی دراز مدت می شود [3]. مطالعات نشان می دهند آگونیست گیرنده های CB1 مراحل مختلف پردازش حافظه مانند اکتساب<sup>۱۳</sup> و تثبیت<sup>۱۴</sup> حافظه را تحت تأثیر قرار می دهد [۱۰]. با توجه به اینکه تراکم بالایی از گیرنده های CB1 در هیپوکامپ وجود دارد و توجه به این نکته که فعال شدن این گیرنده های پیش سیناپسی موجب مهار رهایش

دارد [F (6, 49) = 13/62, p < 0/001]. اما مقادیر مختلف کلونیدین ( $0.25$ ،  $0.50 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) به همراه مقدار غیر موثر WIN55, 212-2 ( $0.25 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) و کلونیدین ( $0.5 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) به تنهایی می تواند حافظه تخریب شده با WIN55, 212-2 ( $0.5 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) روز آموزش را اصلاح نماید [F (5, 42) = 10/37, p > 0/01].



نمودار ۳ - اثر کلونیدین بر حافظه اجتنابی تخریب شده با WIN55, 212-2.  $***P < 0.001$  در مقایسه با گروه سالین/ سالین و  $P < 0.001$  /  $P < 0.05$ ،  $+++P < 0.001$  در مقایسه با WIN55, 212-2 ( $0.5 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) / حامل می باشد.

۴ - آزمایش چهارم: نتایج تزریق درون مغزی قبل از آزمون پرازوسین و یوهمیین بر روی یادگیری وابسته به وضعیت کانابینوئیدها  
آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که بکار بردن پرازوسین یا یوهمیین قبل از آزمون بازگشت حافظه القاء شده با WIN55, 212-2 روز آزمون را در موش هایی که در روز آموزش نیز تحت تأثیر WIN55, 212-2 قرار داشتند کاهش می دهد [F (4, 35) = 9/87, p < 0/001]. آزمون مکمل توکی نشان داد که پرازوسین ( $0.5 \mu\text{g}/\text{rat}$ ) و

13 - acquisition  
14 - consolidation



یافته‌های ما نشان می‌دهد که تزریق قبل از آزمون آگونیست گیرنده ی آلفا-۲، کولیندین باعث بازگشت حافظه ی تخریب شده با تزریق پس از آموزش WIN55,212-2 می‌شود. بعلاوه نتایج ما در این تحقیق نشان می‌دهد که بکار بردن فنیل افرین یا کلونیدین به همراه مقدار غیر موثر WIN55,212-2 باعث تقویت اثر WIN55,212-2 روز آزمون در بهبود حافظه تخریب شده با WIN55,212-2 روز آموزش می‌شود. این نتایج نشان می‌دهد که WIN55,212-2 با آگونیست‌های گیرنده‌های آلفا - آدرنژیک دارای اثر سینرژیک می‌باشند و فنیل افرین و کلونیدین قادر به تقلید اثر WIN55,212-2 روز آزمون در بهبود حافظه می‌باشند. مطالعات قبلی نشان می‌دهد که تزریق پس از آموزش آگونیست‌های آدرنژیک نظیر اپی نفرین، آمفامین و فنیل افرین باعث تقویت حافظه ای که قبلاً توسط روش‌های مختلف تخریب شده، می‌شود [۵]. نتایج ما شاید موافق با مطالعات قبلی باشد که نشان می‌دهد کولیندین قادر به اصلاح حافظه ی تخریب شده با آنتاگونیست‌های گیرنده‌های NMDA مانند MK-801 یا فنسیکلیدین<sup>۱۶</sup> می‌باشد. مکانیسمی که از طریق آن گیرنده‌های آدرنژیک فرآیند حافظه را تحت تأثیر قرار می‌دهد کاملاً مشخص نمی‌باشد اما به نظر می‌رسد به توانایی این گیرنده‌ها در تعدیل انتقال پیام‌های گلوتاماتی در محل سیناپس مربوط باشد. این تعدیل از طریق G پروتئین‌های جفت شده با گیرنده‌های آدرنژیک صورت می‌گیرد [۵].

در این مطالعه اثر تزریق قبل از آزمون آنتاگونیست گیرنده‌های آلفا-۱، پرازوسین و آنتاگونیست گیرنده‌های آلفا-۲-آدرنژیک، یوهمبین در حضور WIN55,212-2 بر روی حافظه اجتنابی مهاري مورد بررسی قرار گرفت. نتایج ما نشان می‌دهد که در حیواناتی که مقادیر موثر WIN55,212-2 را بعد از آموزش و قبل از آزمون دریافت کرده‌اند تزریق قبل از آزمون پرازوسین یا یوهمبین مانع بهبود حافظه توسط

میانجی‌های عصبی مختلف می‌شود [۱۸] این احتمال وجود دارد که کانابینوئیدها به واسطه ی مهار آزادسازی گلوتامات، استیل کولین و نور آدرنالین باعث تخریب حافظه شوند.

فراموشی القاء شده با تزریق بعد از آموزش WIN55-212-2 (۰/۵ μg/rat) به طور کامل با تزریق همان مقدار دارو قبل از آزمون به حالت عادی برمی‌گردد. مطالعات قبلی ما نشان داده بود که تزریق WIN55,212-2 به صورت درون بطنی در روز آزمون باعث بهبود حافظه ی تخریب شده با تزریق درون بطنی WIN55,212-2 در روز آموزش می‌شود [۲۲]. این نتایج نشان می‌دهد که کانابینوئیدها یادگیری وابسته به وضعیت ایجاد می‌نماید. یادگیری وابسته به وضعیت پدیده ای است که توسط برخی از داروهای مقلد حالات روانی در انسان ایجاد می‌شود [۱۲]. در این پدیده به یاد آوری اطلاعات تازه کسب شده تنها زمانی امکان پذیر می‌باشد که جاندار در زمان به خاطر آوردن اطلاعات در همان شرایطی قرار گیرد که در زمان کدبندی<sup>۱۵</sup> اطلاعات در آن قرار داشته است [۱۹]. این شرایط یکسان می‌تواند با به کار بردن دارو در روز آموزش و آزمون ایجاد گردد. سیستم کانابینوئیدی و سیستم اپیوئیدی شباهت‌های زیادی با یکدیگر دارند، مطالعات پیشین نشان می‌دهند که مرفین یادگیری وابسته به وضعیت ایجاد می‌نماید [۲۲] و داروهای آلفا-۲-آدرنژیک می‌توانند یادگیری وابسته به وضعیت القا شده با مورفین را تحت تأثیر قرار دهند [۸]. با در نظر گرفتن شواهد فوق این احتمال وجود دارد که اثرات کانابینوئیدها بر روی حافظه از طریق گیرنده‌های آدرنژیک میانجی‌گری شود، بنابراین در این مطالعه ما اثرات تزریق قبل از آزمون آگونیست‌های گیرنده‌های آلفا-آدرنژیک را بر روی حافظه ی اجتنابی مهاري تخریب شده با کانابینوئیدها و همچنین اثر آنتاگونیست‌های آلفا-آدرنژیک را بر روی یادگیری وابسته به وضعیت القا شده با کانابینوئیدها مورد بررسی قرار داده ایم.



3- Clarke JR, Rossato JI, Monteiro S, Bevilacqua LR, Izquierdo I, Cammarota M(2008). Posttraining activation of CB1 cannabinoid receptors in the CA1 region of the dorsal hippocampus impairs object recognition long-term memory. *Neurobiol Learn Mem* 90:374-381.

4- Clayton EC, Williams CL(2000). Adrenergic activation of the nucleus tractus solitarius potentiates amygdala norepinephrine release and enhances retention performance in emotionally arousing and spatial memory tasks. *Behav Brain Res* 112:151-158.

5- Ferry B, Roozendaal B, McGaugh JL(1999a). Basolateral amygdala noradrenergic influences on memory storage are mediated by an interaction between beta- and alpha1-adrenoceptors. *J Neurosci* 19:5119-5123.

6- Ferry B, Roozendaal B, McGaugh JL(1999b). Involvement of alpha1-adrenoceptors in the basolateral amygdala in modulation of memory storage. *Eur J Pharmacol* 372:9-16.

7- Hampson AJ, Bornheim LM, Scanziani M, Yost CS, Gray AT, Hansen BM, Leonoudakis DJ, Bickler PE(1998). Dual effects of anandamide on NMDA receptor-mediated responses and neurotransmission. *J Neurochem* 70:671-676.

8- Homayoun H, Khavandgar S, Zarrindast MR(2003). Morphine state-dependent learning: interactions with alpha2-adrenoceptors and acute stress. *Behav Pharmacol* 14:41-48.

9- Kataoka Y, Ohta H, Fujiwara M, Oishi R, Ueki S(1987). Noradrenergic involvement in catalepsy induced by delta 9-tetrahydrocannabinol. *Neuropharmacology* 26:55-60.

10- Kobil T, Hazvi S, Dudai Y(2007). Role of cortical cannabinoid CB1 receptor in conditioned taste aversion memory. *Eur J Neurosci* 25:3417-3421.

11- Obersztyn M, Kostowski W(1983). Noradrenergic agonists and antagonists: effects on avoidance behaviour in rats. *Acta Physiol Pol* 34:401-407.

WIN55,212-2 روز آزمون می شود. به عبارتی دیگر پرازوسین و یوهمبین به صورت معنی داری قادر به مهار یادگیری وابسته به وضعیت القا شده با کانابینوئیدها می باشد. این نتایج شاید نشان دهنده ی این باشد که پاسخ ایجاد شده توسط کانابینوئیدها، از طریق گیرنده های آلفا-آدرنرژیک میانجی گری می شود. کاهش حافظه ای که توسط پرازوسین و یوهمبین به کار رفته قبل از WIN55,212-2 روز آزمون ایجاد شده است موافق با مطالعاتی می باشند که نشان می دهند پرازوسین اکتساب حافظه را کاهش می دهد [۱۱].

در خاتمه با در نظر گرفتن اثرات تزریق آگونیست ها و آنتاگونیست های آلفا-۱ و آلفا-۲-آدرنرژیک به داخل هیپوکامپ پستی می توان بیان داشت که یادگیری وابسته به وضعیت کانابینوئیدها در ارتباط با فعال شدن سیستم آدرنرژیک در هیپوکامپ پستی می باشد هر چند مطالعات بیشتر برای مشخص شدن مکانیسم واقعی تداخل بین WIN55,212-2 و گیرنده های آلفا- آدرنرژیک لازم می باشد.

## سپاسگزاری

بدین وسیله از زحمات مریم السادات شاهین که ما را در آماده سازی مقاله حاضر یاری نموده اند ، تشکر و قدردانی می گردد.

## منابع

1- Al-Hayani A, Davies SN(2002). Effect of cannabinoids on synaptic transmission in the rat hippocampal slice is temperature-dependent. *Eur J Pharmacol* 442:47-54.

2- Barann M, Molderings G, Bruss M, Bonisch H, Urban BW, Gothert M(2002). Direct inhibition by cannabinoids of human 5-HT3A receptors: probable involvement of an allosteric modulatory site. *Br J Pharmacol* 137:589-596.





- 22- Zarrindast MR, Askari E, Khalilzadeh A, Nouraei N(2006a). Morphine state-dependent learning sensitization and interaction with nitric oxide. *Pharmacology* 78:66-71.
- 23- Zarrindast MR, Kangarlu-Haghighi K, Khalilzadeh A, Fazli-Tabaei S(2006b). Influence of intracerebroventricular administration of cannabinergic drugs on morphine state-dependent memory in the step-down passive avoidance test. *Behav Pharmacol* 17:231-237.
- 12- Overton DA(1991). Historical context of state dependent learning and discriminative drug effects. *Behav Pharmacol* 2:253-264.
- 13- Oz M, Ravindran A, Diaz-Ruiz O, Zhang L, Morales M(2003). The endogenous cannabinoid anandamide inhibits alpha7 nicotinic acetylcholine receptor-mediated responses in *Xenopus oocytes*. *J Pharmacol Exp Ther* 306:1003-1010.
- 14- Paxinos G, & Watson, C(1997). *The rat brain in stereotaxic coordinates*
- 15- San Diego: Academic Press.
- 16- Pugh G, Jr., Smith PB, Dombrowski DS, Welch SP(1996). The role of endogenous opioids in enhancing the antinociception produced by the combination of delta 9-tetrahydrocannabinol and morphine in the spinal cord. *J Pharmacol Exp Ther* 279:608-616.
- 17- Ryberg E, Larsson N, Sjogren S, Hjorth S, Hermansson NO, Leonova J, Elebring T, Nilsson K, Drmota T, Greasley PJ(2007). The orphan receptor GPR55 is a novel cannabinoid receptor. *Br J Pharmacol* 152:1092-1101.
- 18- Schlicker E, Kathmann M(2001). Modulation of transmitter release via presynaptic cannabinoid receptors. *Trends Pharmacol Sci* 22:565-572.
- 19- Shulz DE, Sosnik R, Ego V, Haidarliu S, Ahissar E(2000). A neuronal analogue of state-dependent learning. *Nature* 403:549-553.
- 20- Singh PP, Das PK(1976). Role of catecholamines in the hypothermic activity of cannabis in albino rats. *Psychopharmacology (Berl)* 50:199-204.
- 21- Thiemann G, Fletcher BC, Ledent C, Molleman A, Hasenohrl RU(2007). The genetic versus pharmacological invalidation of the cannabinoid CB(1) receptor results in differential effects on 'non-associative' memory and forebrain monoamine concentrations in mice. *Neurobiol Learn Mem* 88:416-423.