

The investigation of the long-term effects of aquatic extraction of *Cannabis sativa* on spatial memory consolidation in Rats

Kafae Razavi M^{1*}, Ebrahimpour S¹, Tehranipour M², Behnam Rasouli M³

1- MSc, Member of Young Researchers' Club of Mashhad, Department of Biology, Faculty of Science, Islamic Azad University of Mashhad, Mashhad, Iran

2- Assistant professor, Department of Biology, Faculty of Science, Islamic Azad University of Mashhad, Mashhad, Iran

3- Professor, Faculty of Science, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Received 2 Sep 2009 Accepted 9 Dec 2009

Abstract

Background: From a physiologic point of view, memory is formed through changes in synaptic conductivity from one neuron to the next. These changes result in the formation of long-term potentiation for conducting a message. *Cannabis sativa* has more than 61 components that are called cannabinoid. The aim of this study was to investigate the effect of aquatic extraction of *cannabis sativa* seed on spatial memory consolidation in rats.

Materials and Methods: First, 40 Wistar rats, each nearly 250-320g, were divided into four experimental groups and a control group. *Cannabis sativa* seed was extracted with Soxhlet apparatus. To consolidate spatial memory, Morris water maze (MWM) test was administered in seven sessions, four trials for each session. Experimental groups 1, 2, 3 and 4 received 50mg/kg⁻¹, 100mg/kg⁻¹, 150mg/kg⁻¹, 210mg/kg⁻¹ peritoneal injections (IP), respectively. After memory consolidation, the position of platform area was changed and MWM was repeated for five days.

Results: The results show that experimental groups 1, 2, and 3 had a significant decrease in learning time in the comparison to the control group ($p < 0.05$), whereas experimental group 4 with a 210mg/kg⁻¹ dose did not reveal any significant difference in comparison to the control group ($p < 0.05$).

Conclusion: It is likely that this long-term potentiation is done through depolarization-induced suppression inhibition (DSI) and depolarization-induced suppression excitatory (DSE) mechanisms in the CA1 area of Hippocamp that lead to neuro-plasticity through neurotransmitter regulation.

Keywords: Cannabis sativa, LTP, Spatial memory, Water moris maze

*Corresponding author:

E-mail: mortezakafae@mshdiau.ac.ir

Address: 2/77, 72 Imammat, Imammat Blv., Mashhad, Iran

Postal Code: 9188 1456 19

تأثیرات طولانی مدت عصاره آبی گیاه شاهدانه بر تثبیت حافظه فضایی در رت

مرتضی کفای رضوی^{1*}، سعیده ابراهیم پور¹، دکتر مریم طهرانی پور²، دکتر مرتضی بهنام رسولی³

1- کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، باشگاه پژوهشگران جوان، مشهد، ایران

2- استادیار، دکترای فیزیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مشهد، ایران

3- استاد، دکترای فیزیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت 88/6/11، تاریخ پذیرش 88/9/18

چکیده

زمینه و هدف: از دیدگاه فیزیولوژیک حافظه به واسطه تغییراتی در قابلیت هدایت سیناپسی از نورونی به نورون بعد ایجاد می‌شود. این تغییرات موجب پیدایش مسیرهای تسهیلی برای هدایت پیام می‌گردد. در گیاه شاهدانه بیش از 61 ماده شیمیایی یافت می‌شود که کانابینوئید نامیده می‌شوند. هدف از این تحقیق بررسی اثر عصاره آبی بذر این گیاه بر تثبیت حافظه طولانی مدت می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق تجربی - آزمایشگاهی ابتدا تعداد 40 راس رت با وزن تقریبی 250-320 گرم به 4 گروه تجربی و یک گروه شاهد تقسیم شدند. بذر گیاه توسط روش سوکسله عصاره‌گیری شد. برای تثبیت حافظه تست توسط روش ماز آبی موریس در 7 جلسه و در هر جلسه با 4 کارآزمایی برای هر رت صورت گرفت. گروه‌های تجربی 1، 2، 3 و 4 به ترتیب با دوزهای 50، 100، 150، 210 میلی گرم بر کیلوگرم به روش داخل صفاقی تزریق شدند. موقعیت سکوی پنهان پس از تثبیت حافظه تغییر داده شد و تست موریس به مدت 5 روز تکرار گردید.

یافته‌ها: گروه‌های تجربی 1، 2 و 3 نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری در زمان یادگیری داشته است ($p < 0/05$) در حالی که گروه تجربی 4 نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان نداد.

نتیجه گیری: احتمال می‌رود این تقویت دراز مدت حافظه از طریق مکانیسم دپولاریزاسیون سیناپسی مهارى و دپولاریزاسیون سیناپسی تحریکی در ناحیه CA1 ژيروس دندان‌های هیپوکامپ ایجاد شود که با تنظیم آزاد سازی میانجی موجب پلاستی سیتی نورونی می‌شود.

واژگان کلیدی: گیاه شاهدانه، تقویت دراز مدت، حافظه فضایی، ماز آبی موریس

* نویسنده مسئول: مشهد، بلوار امامت، امامت 72، پلاک 2/77 (کد پستی: 9188145619)

Email: mortezakafae@mshdiau.ac.ir

مقدمه

پدیده‌های یادگیری و حافظه هم در سطح سلولی و هم در سطح رفتاری با یکدیگر ارتباط بسیار نزدیکی دارند (1). از دیدگاه فیزیولوژی حافظه به واسطه تغییراتی در قابلیت هدایت سیناپسی از نورونی به نورون بعد ایجاد می‌شود که این تغییرات موجب پیدایش مسیرهای تازه یا مسیرهای تسهیلی برای هدایت پیام‌ها در مدارهای عصبی مغز می‌گردد (2). در شرایط زندگی صنعتی امروز که اختلالات حافظه با سرعت بیشتری در حال وقوع است، انسان به دنبال شناخت روش‌هایی است که از اختلالات مربوط به آن جلوگیری کرده و موجب تقویت حافظه گردد. یکی از گیاهانی که در بسیاری از فرهنگ‌ها و طب قدیم از آن به عنوان دارو یاد شده، شاهدانه یا کانابیس (Cannabis sativa) نام دارد که بیش از 4000 هزار سال مصرف تجاری، دارویی و پزشکی داشته است. از این گیاه بیش از 61 ماده شیمیایی به نام کانابینوئید به دست می‌آید که مهم‌ترین ماده آن تترا هیدرول کانابینول (Tetrahydrocannabinol)، مسئول بیشتر آثار روان گردانی شاهدانه می‌باشد (3). کانابینوئیدهای آندوژن از قبیل آناندامید (Anandamide) و آراشیدونیل گلیسرول (Arachidonoylglycerol) از طریق تأثیر بر رسپتورهای CB1 و CB2 نقش مهمی را بر فرایندهای فیزیولوژیکی بدن ایفا می‌کنند (4). نتایج مطالعات نشان داده که تترا هیدرو کانابینول نیز می‌تواند بر رسپتورهای کانابینوئیدی آندوژن موثر واقع شود (5، 6). از آنجایی که رسپتور کانابینوئیدی CB1 در مغز دارای تراکم زیادی در مناطق گلوبوس پالیدوس، ماده سیاه، تشکیلات مشبک، لایه‌های مولکولی کورتکس مغز، ژيروس دندان‌ای و هیپوکامپ می‌باشد (7) محققین معتقدند کانابینوئیدها می‌توانند بر فرایندهای فیزیولوژیکی مغز خصوصاً حافظه نقش به‌سزایی را ایفا کنند (8). بحث‌های ضد و نقیصی در مورد انتقال سیناپس در هیپوکامپ و مهار آن توسط کانابینوئیدها مطرح شده؛ این اختلاف نظرها به دلیل تأثیرات گسترده و متفاوت کانابینوئیدها بر انتقال سیناپسی می‌باشد (9). اخیراً

پیشرفت‌های چشم‌گیری برای شناخت سیستم‌های اندوکانابینوئیدی از طریق سنتز کانابینوئیدها و تأثیرات آنها بر آزاد سازی نوروترانسمیترها صورت گرفته است (10، 11).

محققان در طی آزمایشاتی به موش‌های آزمایشگاهی مقادیر زیادی از نوع سنتزی کانابینوئید را تزریق کردند که پس از گذشت 1 ماه مشاهده شد سلول‌های عصبی در هیپوکامپ مغز که تخریب شده بودند مجدداً تولید شدند (12). تحقیقات دیگر نیز نشان می‌دهد این مواد می‌توانند حالت اضطراب و افسردگی را کاهش و یا آن را تشدید نمایند (13، 14)؛ همچنین در هیپوتالاموس نقش کنترلی اشتها را بر عهده دارند (15).

امروزه تحقیقات زیادی بر اثرات درمانی کانابینوئیدها بر بیماران مبتلابه صرع، آلرژی، سرطان، آلزایمر، بیماران گوارشی (Inflammatory Bowel Disease) و مولتیپل اسکلروزیس (Multiple Sclerosis) صورت گرفته و نتایج قابل توجهی به دست آمده است (20-16).

از آنجایی که تقویت دراز مدت (Long Term Potentiation-LTP) بهترین مدل سلولی برای مطالعه یادگیری و حافظه در مغز پستانداران می‌باشد (1، 21)؛ لذا در این تحقیق پژوهشی سعی شده تا نقش عصاره آبی بذر گیاه شاهدانه بر روند یادگیری و تثبیت حافظه فضایی رت مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

برای انجام این مطالعه تجربی آزمایشگاهی تعداد 40 راس رت نر نژاد ویستار با سن تقریبی 8 هفته و وزن 250-320 گرم از موسسه سرم سازی رازی مشهد خریداری و همه حیوانات در دمای 23-25 درجه سانتی‌گراد و رطوبت 50 درصد و سیکل روشنایی 12 ساعت روشنایی و 12 ساعت تاریکی در اتاق حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد نگهداری شدند. در طول آزمایش حیوانات به آب و غذای استاندارد کافی دسترسی داشتند. به منظور انجام آزمایش گیاه شاهدانه با کد هر بار یوم 2548 در آزمایشگاه

عصاره آبی گیاه به ترتیب با دوزهای 50، 100، 150 و 210 میلی گرم بر کیلوگرم به گروه‌های تجربی 1، 2، 3 و 4 در مدت 2 هفته و هر هفته با یک تزریق به صورت داخل صفاقی انجام شد. برای ایجاد شرایط مشابه نیز به گروه شاهد آب مقطر استریل تزریق شد. با توجه این که اثرات کانابیس ظرف چند دقیقه ظاهر می‌شود و حدود 30 دقیقه بعد شدت می‌یابد و اثرات حرکتی آن تا مدت بیشتری (حدود 12 ساعت) باقی می‌ماند (17) لذا تست حافظه فضایی یک ساعت پس از تزریق در هفته دوم انجام شد، در حالی که موقعیت سکوی پنهان نسبت به مرحله آموزش تغییر داده شد و در مرکز ربع جنوب غربی قرار گرفت.

تست حافظه فضایی موریس به مدت 5 روز در گروه‌های تجربی و شاهد تکرار گردید. محاسبات آماری بین گروه‌های مختلف با استفاده از نرم افزار آماری SPSS انجام گرفت. به منظور تعیین اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های مختلف آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (Anova) و آزمون توکی (Tukey) انجام شد و مقادیر $p \leq 0/05$ برای اختلاف سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار رایانه‌ای Excel و SPSS استفاده گردید. ضمناً داده‌ها به صورت میانگین و خطای استاندارد از میانگین گزارش شدند.

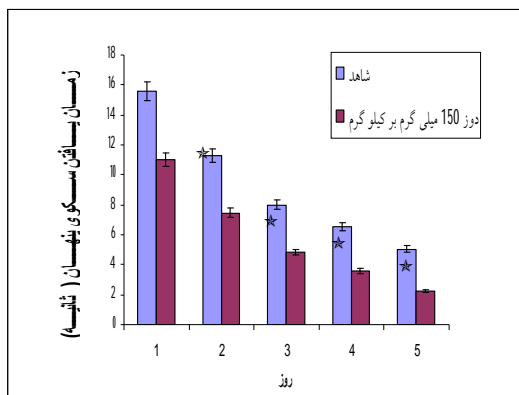
یافته‌ها

نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که میانگین زمان سپری شده برای یافتن سکو توسط کلیه گروه‌های شاهد، تجربی 1، 2 و 3 به ترتیب با دوز تزریق 50، 100 و 150 میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش معنی‌داری داشته است ($p < 0/05$). مقایسه گروه تجربی 1، 2 و 3 با گروه شاهد نیز کاهش معنی‌داری را در زمان پیدا کردن سکوی پنهان نشان می‌دهد (نمودار 1، 2 و 3).

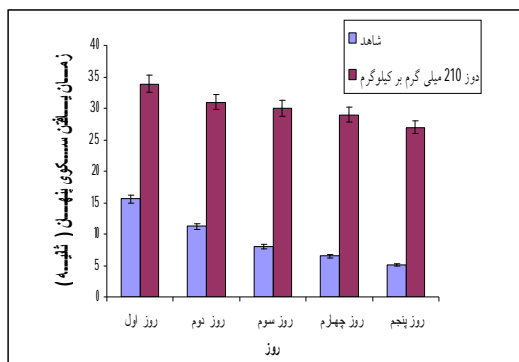
با توجه به نمودار 4 گروه تجربی 4 با دوز 210 میلی‌گرم بر کیلوگرم اختلاف معنی‌داری را در روند یادگیری و حافظه نشان نمی‌دهد ($p < 0/05$) ولی در مقایسه با گروه شاهد و گروه‌های تجربی افزایش معنی‌دار داشته است ($p < 0/05$) همچنین در مقایسه بین گروه‌های تجربی 1،

گیاهی دانشگاه آزاد اسلامی شناسایی و بذر شسته شده آن برای هر نوبت عصاره گیری در همان روز آسیاب شد. 50 گرم پودر بذر آسیاب شده شاهدانه به همراه 300 سی سی آب مقطر استریل در حرارت 40-60 درجه به مدت 6 ساعت به وسیله دستگاه سوکسله عصاره‌گیری شد. سپس عصاره به دست آمده در داخل دستگاه انکوباتور با درجه حرارت 45 به مدت 48 ساعت قرار گرفت تا حذف حلال صورت بگیرد (22). عصاره آبی به دست آمده پودر خشک قهوه‌ای رنگ، با وزن 4/5 گرم بود. برای تعیین دوز تزریقی از روش تجربی LD50 استفاده شد.

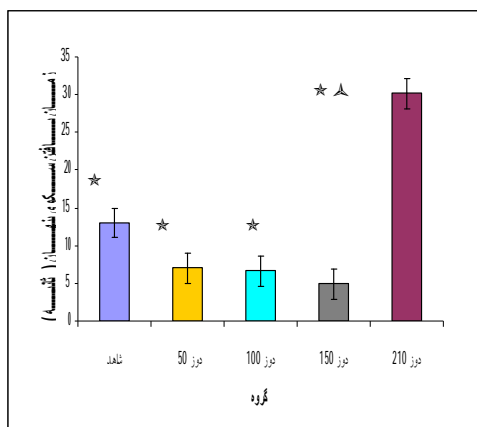
به منظور انجام آزمایش تعداد 40 راس رت به طور کاملاً تصادفی به 4 گروه تجربی و یک گروه شاهد تقسیم شدند. برای انجام تست مربوط به حافظه فضایی از ماز آبی موریس استفاده شد. تست ابتدا در 7 جلسه جداگانه برای هر یک از گروه‌های تجربی و شاهد انجام شد تا حافظه فضایی در آنها تثبیت گردد. ماز آبی مورد استفاده، حوضچه‌ای آبی رنگ با قطر 150 سانتی متر و ارتفاع 50 سانتی متر بود که تا ارتفاع 26 سانتی متر از آب پر شده و توسط نوار باریکی به چهار قطب (شمال، جنوب، غرب و شرق) تقسیم‌بندی گردید. سکوی نامرئی (Platform) از جنس پلکسی گلاس شفاف با قطر 10 سانتی متر و ارتفاع 24 سانتی متر در حدود 2 سانتی متر زیر سطح آب در مرکز ربع شمال شرقی قرار گرفت و موقعیت سکو در طول هر آزمایش ثابت و دمای آب 25-26 درجه سانتی گراد در نظر گرفته شد (23). در هر کارآزمایی حیوان از یکی از 4 نقطه به طور تصادفی و در حالی که سر حیوان به سمت دیوار حوضچه قرار داشت در آب رها می‌شد و حیوان 1 دقیقه فرصت داشت تا سکوی پنهان را پیدا کند. در شروع هر کارآزمایی هر رت به مدت 20-15 ثانیه بر روی سکوی پنهان قرار داده می‌شد تا یک توصیف فضایی از محیط اطراف خود به دست آورد. در تمام مراحل آزمون دوربین فیلم برداری در بالای ماز آبی نصب و تصاویر مربوط به مسیر حرکت حیوان همزمان به صورت مدار بسته توسط صفحه مانیتور دریافت و ثبت می‌شد.



نمودار 3. مقایسه میانگین زمان سپری شده برای یافتن سکو در گروه تجربی 3 با دوز تقریبی 150 میلی گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه شاهد طی 5 روز متوالی * (p<0/05) معنی دار بودن اختلاف میانگین زمان سپری شده با روز اول در گروه تجربی 3



نمودار 4. مقایسه میانگین زمان سپری شده برای یافتن سکو در گروه تجربی 4 با دوز تقریبی 210 میلی گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه شاهد طی 5 روز متوالی



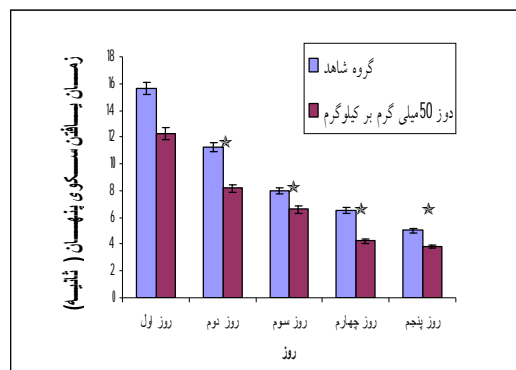
نمودار 5. مقایسه میانگین زمان سپری شده برای یافتن سکو بین گروه‌های مختلف

* (p<0/05) معنی دار بودن اختلاف میانگین زمان سپری شده با گروه شاهد
 ▲ (p<0/05) معنی دار بودن اختلاف میانگین زمان سپری شده بین گروه‌های تجربی

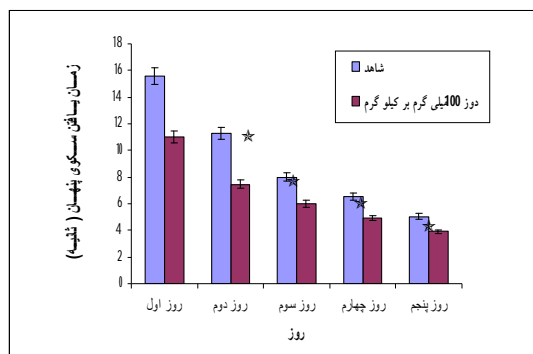
2 و 3 اختلاف معنی داری در زمان یادگیری و حافظه مشاهده نشد (p<0/05) (نمودار 3).

نمودار 5 مقایسه میانگین زمان سپری شده در گروه‌های تجربی و شاهد را نشان می‌دهد.

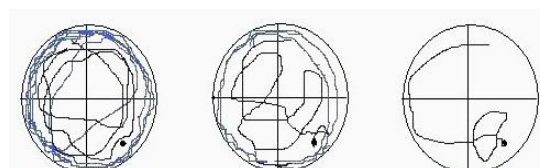
اشکال 1، 2 و 3 به ترتیب روند یادگیری را در گروه شاهد، تجربی 3 و تجربی 4 نشان می‌دهد تا تفاوت آشکار مسیر طی شده توسط حیوان در روزهای اول، سوم و پنجم مورد توجه قرار گیرد. در طی مراحل آزمایش رت‌های گروه‌های تجربی 1، 2 و 3 علایمی را همچون بی‌اشتهایی و بی‌حرکی از خود نشان دادند و دچار کاهش وزن به مقدار 15-20 گرم پس از یک هفته تزریق شدند که این کاهش وزن معادل 6 درصد از کل وزنشان محسوب می‌شد.



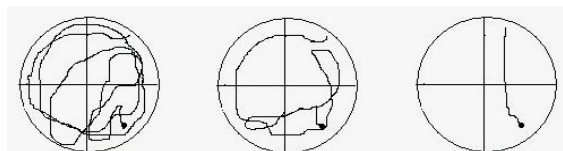
نمودار 1. مقایسه میانگین زمان سپری شده برای یافتن سکو در گروه تجربی 1 با دوز تقریبی 50 میلی گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه شاهد طی 5 روز متوالی * (p<0/05) معنی دار بودن اختلاف میانگین زمان سپری شده با روز اول در گروه تجربی 1



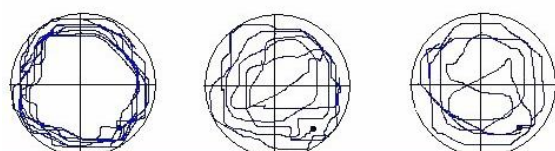
نمودار 2. مقایسه میانگین زمان سپری شده برای یافتن سکو در گروه تجربی 2 با دوز تقریبی 100 میلی گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه شاهد طی 5 روز متوالی * (p<0/05) معنی دار بودن اختلاف میانگین زمان سپری شده با روز اول در گروه تجربی 2



شکل 1. نمایش مسیر حرکت در روز اول، سوم و پنجم به ترتیب از چپ به راست در گروه شاهد



شکل 2. نمایش مسیر حرکت در روز اول، سوم و پنجم به ترتیب از چپ به راست در گروه تجربی 3 با دوز 150 میلی گرم بر کیلوگرم



شکل 3. نمایش مسیر حرکت در روز اول، سوم و پنجم به ترتیب از چپ به راست در گروه تجربی 4 با دوز 210 میلی گرم بر کیلوگرم

بحث

ندارد. با توجه به نمودار 5 می توان مشاهده نمود که گروه تجربی 4 با دوز تزریقی 210 میلی گرم بر کیلوگرم افزایش معنی داری را در میانگین زمان رسیدن به سکو در مقایسه با گروه شاهد نشان می دهد، همچنین گروه های تجربی 1، 2 و 3 کاهش معنی داری در زمان یادگیری نسبت به گروه شاهد نشان می دهند ولی هیچ اختلاف معنی داری بین این گروه های تجربی نسبت به هم مشاهده نشد. این نتایج نشان دهنده تأثیرات متفاوت مواد کانابینوئیدی در دوزهای مختلف بر روند حافظه و یادگیری می باشد و دوزهای تزریقی بالا سبب اختلال در مکانیسم های درگیر در حافظه و یادگیری می شود. آنچه مسلم است مکانیسم حافظه کوتاه مدت وابسته به کانال های یونی ویژه ای است که یون های کلسیم را در پایانه عصبی وارد می کند، این امر منجر به افزایش آزاد سازی نوروترانسمیتر از سیناپس و در نتیجه منجر به پاسخ رفلکسی می شود (12). این تغییرات به واسطه فسفوریلاسیون پروتئینی کانال های یونی ویژه ای صورت می گیرد و یک تحریک قوی تر و طولانی تر منجر به یک شکل از حافظه دراز مدت می شود که می تواند برای روزها و هفته ها باقی بماند (24). در حال حاضر اعتقاد بر این است که شکل گیری تقویت دراز مدت در مغز با شکل گیری

یافته های این تحقیق نشان می دهد که مواد کانابینوئیدی می توانند وابسته به دوز تزریقی بر حافظه موثر باشند. با توجه به نمودار 1 میانگین زمان رسیدن به سکو در گروه شاهد در روز اول 12/62 ثانیه، در روز سوم 9 ثانیه و در روز پنجم 6/04 ثانیه می باشد که نشان می دهد زمان سپری شده در روز اول با سایر روزها دارای اختلاف معنی داری است در حالی که میانگین زمان رسیدن به سکو با توجه به نمودار 3 در گروه تجربی 3 با دوز تقریبی 150 میلی گرم بر کیلوگرم در روز اول 11/04 ثانیه، در روز سوم 4/87 ثانیه و در روز پنجم 2/37 ثانیه می باشد که گروه تجربی 3 نسبت به گروه شاهد دارای کاهش معنی داری در زمان یادگیری می باشد ($p < 0/05$). همچنین در گروه تجربی 1 و 2 با توجه به نمودار 1 و 2 نیز میانگین زمان رسیدن به سکو در روزهای مختلف کاهش معنی داری را نسبت به گروه شاهد نشان می دهد. با توجه به نمودار 4 مشاهده می شود میانگین زمان رسیدن به سکو در روزهای دوم، سوم و چهارم در مقایسه با روز اول هیچ اختلاف معنی داری را نشان نمی دهد و روند یادگیری و حافظه برای این گروه تجربی با دوز تزریقی 210 میلی گرم بر کیلوگرم وجود

شده رسپتورهای وانیلوئیدی موجب مهار جذب سلولی و هیدرولیز آناندامید می‌شود در نتیجه اثرات آناندامید طولانی مدت باقی می‌ماند (22). بنابراین با توجه به تاثیر آناندامید بر رسپتورهای وانیلوئیدی و NMDA احتمال می‌رود که کانابینوئیدهای آگروژن با منشا گیاهی نیز از طریق تقلید نقش آناندامید منجر به بروز LTP و تقویت حافظه در هیپوکامپ گردند. نتایج حاصله از این تحقیق نیز گواه بر این مدعاست که کاهش معنی‌دار زمان یادگیری گروه‌های تجربی 1، 2 و 3 با دوزهای تزریقی 50، 100 و 150 میلی‌گرم بر کیلوگرم احتمالاً به دلیل تاثیر مستقیم کانابینوئیدها بر رسپتورهای VR1 و NMDA می‌باشد. در طول انجام آزمایشات علایمی همچون بی‌اشتهایی و کاهش وزن در رت‌های گروه‌های تجربی نیز مشاهده شد که این مطلب نشان دهنده نقش کانابینوئیدها بر اشتها و تنظیم وزن می‌باشد که به گفته برخی محققان مصرف کانابینوئیدها در دراز مدت می‌تواند سوخت و ساز بدن را نیز کاهش دهد (11).

نتیجه گیری

بر اساس یافته‌های این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که عصاره آبی گیاه کانابیس در دوزهای تزریقی بالا موجب اختلال در حافظه و یادگیری می‌شود و در دوزهای تزریقی پایین و متوسط موجب تقویت حافظه می‌گردد.

تشکر و قدردانی

در پایان از گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم به خاطر تامین مالی این پروژه و همچنین تقدیر و تشکر از ریاست محترم دانشگاه، مدیر گروه محترم زیست‌شناسی و همچنین مدیر عمومی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد از بابت همکاری در انجام و تکمیل پایان‌نامه دانشجویی تشکر و قدردانی می‌نمایم.

منابع

1. Lee J. Memory reconsolidation mediates the strengthening of memories by additional

سیناپس‌های جدید بین پایانه‌های اکسونی پیش‌سیناپسی و دندریت نورون پس‌سیناپسی همراه می‌باشد. بروز تقویت دراز مدت نتیجه تغییرات پیش‌سیناپسی و افزایش آزاد سازی نوروترانسمیتر در سلول‌های هرمی هیپوکامپ می‌باشد که در پاسخ به فعالیت با فرکانس بالا در مسیرهای آوران هیپوکامپ ایجاد می‌شود (25). بدین منظور بایستی پیام آور رتروگردای که از جایگاه‌های پس‌سیناپسی آزاد می‌شود و تغییرات طولانی مدت را در آزاد سازی نوروترانسمیتر ایجاد می‌کند وجود داشته باشد (26).

نتایج حاصل از تحقیقات نشان داده که کانابینوئیدها از طریق اثرات مستقیم بر رسپتورها و همچنین اثرات ثانویه‌ای که بدون واسطه رسپتورها به انجام می‌رسد می‌تواند اثرات متفاوت وابسته به دوز را در فرایندهای یادگیری و حافظه نشان دهد (27). کانابینوئیدها از طریق رسپتورهای CB1 که وابسته به پروتئین G می‌باشند به طور مستقیم باعث مهار کردن کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ و همچنین کانال‌های سدیمی می‌شوند و از طریق مکانیسم دیگری با تاثیر بر کانال‌های پتاسیمی تیپ A منجر به خروج پتاسیم از نورون‌های واقع در ناحیه CA1 ژيروس داندانه‌ای هیپوکامپ می‌شود (8).

از طرفی نتایج تحقیقات نشان داده که کانابینوئیدها در دوزهای بالا از طریق تحریک یا ترشح بیش از اندازه گلوتامات منجر به سمیت عصبی (Neurotoxicity) می‌شوند (28)؛ بنابراین احتمال می‌رود اختلال حافظه و یادگیری در گروه تجربی 4 با دوز بالای 210 میلی‌گرم بر کیلوگرم از طریق تحریک و ترشح بیش از اندازه گلوتامات منجر به نوروتوکسیسیته و اختلال در روند حافظه و یادگیری شود.

با توجه به تحقیقات انجام شده آناندامید با تاثیر بر روی رسپتورهای وانیلوئیدی (VR1) به طور مستقیم باعث مهار کانال پتاسیمی می‌شود و ممکن است به طور مستقیم به رسپتورهای NMDA گلوتاماتی که به فراوانی در مغز به ویژه ناحیه CA1 هیپوکامپ یافت می‌شوند اتصال یابد و موجب بروز LTP شود (29). در تحقیقات دیگر نیز مشاهده

- learning. *Nat Neurosci*. 2008 Nov;11(11):1264-6.
2. Berman D, Dudai Y. Memory extinction, learning anew, and learning the new: dissociations in the molecular machinery of learning in cortex. *Science*. 2001 Mar; 291(5512): 2417-9.
 3. Veldhuis W, van der Stelt M, Wadman M, van Zadelhoff G, Maccarrone M, Fezza F, et al. Neuroprotection by the endogenous cannabinoid anandamide and arvanil against in vivo excitotoxicity in the rat: role of vanilloid receptors and lipoxygenases. *J Neurosci*. 2003 May; 23(10): 4127-33.
 4. Lin Y, Lin R, Bien M, Ho C, Kou Y. Sensitization of capsaicin-sensitive lung vagal afferents by anandamide in rats: role of transient receptor potential vanilloid 1 receptors. *J Appl Physiol*. 2009 Apr; 106(4): 1142-52.
 5. De Kloet A, Woods S. Endocannabinoids and their receptors as targets for obesity therapy. *Endocrinology*. 2009;150(6):2531.
 6. Le Foll B, Goldberg S. Cannabinoid CB1 receptor antagonists as promising new medications for drug dependence. *J Pharmacol Exp Ther*. 2005 Mar;312(3):875-83.
 7. Iversen L. Cannabis and the brain. *Brain*. 2003 Jun;126(Pt 6):1252-70.
 8. Kano M, Ohno-Shosaku T, Hashimoto-dani Y, Uchigashima M, Watanabe M. Endocannabinoid-mediated control of synaptic transmission. *Physiol Rev*. 2009 Jan;89(1):309-80.
 9. Hampson R, Deadwyler S. Role of cannabinoid receptors in memory storage. *Neurobiol Dis*. 1998 Dec;5(6 Pt B):474-82.
 10. Huang C, Lo S, Hsu K. Presynaptic mechanisms underlying cannabinoid inhibition of excitatory synaptic transmission in rat striatal neurons. *J Physiol*. 2001 May;532(Pt 3):731-48.
 11. Fu L, Longhurst J. Electroacupuncture modulates vlPAG release of GABA through presynaptic cannabinoid CB1 receptors. *J Appl Physiol*. 2009 Jun;106(6):1800-9.
 12. Fonseca F, Gorriti M, Bilbao A, Escuredo L, García-segura L, Piomelli D, et al. Role of the endogenous cannabinoid system as a modulator of dopamine transmission: implications for Parkinson's disease and schizophrenia. *Neurotoxicity Research*. 2001; 3(1): 23-35.
 13. Nunez J. Morris Water Maze Experiment. *J Vis Exp*. 2008;19:1-2.
 14. Robbe D, Alonso G, Duchamp F, Bockaert J, Manzoni O. Localization and mechanisms of action of cannabinoid receptors at the glutamatergic synapses of the mouse nucleus accumbens. *J Neurosci*. 2001 Jan;21(1):109-16.
 15. Kirkham T. Endocannabinoids in the regulation of appetite and body weight. *Behav Pharmacol*. 2005 Sep;16(5-6):297-313.
 16. Ramírez B, Blázquez C, Gómez del Pulgar T, Guzmán M, de Ceballos M. Prevention of Alzheimer's disease pathology by cannabinoids: neuroprotection mediated by blockade of microglial activation. *J Neurosci*. 2005 Feb;25(8):1904-13.
 17. Hill M, Gorzalka B. Impairments in endocannabinoid signaling and depressive illness. *JAMA*. 2009 Mar;301(11):1165-6.
 18. Shiflett M, Rankin A, Tomaszycski M, DeVoogd T. Cannabinoid inhibition improves memory in food-storing birds, but with a cost. *Proc Biol Sci*. 2004 Oct;271(1552):2043-8.
 19. McAllister S, Glass M. CB(1) and CB(2) receptor-mediated signalling: a focus on endocannabinoids. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2002 Feb-Mar;66(2-3):161-71.
 20. Pryce G, Ahmed Z, Hankey D, Jackson S, Croxford J, Pocock J, et al. Cannabinoids inhibit neurodegeneration in models of multiple sclerosis. *Brain*. 2003 Oct;126(Pt 10):2191-202.
 21. Izumi Y, Zarrin A, Zorumski C. Arachidonic acid rescues hippocampal long-term potentiation blocked by group I metabotropic glutamate receptor antagonists. *Neuroscience*. 2000;100(3):485-91.
 22. Gokoh M, Kishimoto S, Oka S, Mori M, Waku K, Ishima Y, et al. 2-arachidonoylglycerol, an endogenous cannabinoid receptor ligand, induces rapid actin polymerization in HL-60 cells differentiated into macrophage-like cells. *Biochem J*. 2005 Mar;386(Pt 3):583-9.
 23. Schweitzer P. Cannabinoids decrease the K(+) M-current in hippocampal CA1 neurons. *J Neurosci*. 2000 Jan; 20(1):51-8.

24. Cannich A, Wotjak C, Kamprath K, Hermann H, Lutz B, Marsicano G. CB1 cannabinoid receptors modulate kinase and phosphatase activity during extinction of conditioned fear in mice. *Learn Mem.* 2004 Sep-Oct;11(5):625-32.
25. Kyari M. Extraction and characterization of seed oils. *International Agrophysics.* 2008; 22(2): 139.
26. Varvel S, Lichtman A. Evaluation of CB1 receptor knockout mice in the Morris water maze. *J Pharmacol Exp Ther.* 2002 Jun; 301(3): 915-24.
27. Misner D, Sullivan J. Mechanism of cannabinoid effects on long-term potentiation and depression in hippocampal CA1 neurons. *J Neurosci.* 1999 Aug;19(16):6795-805.
28. Tzavara E, Wade M, Nomikos G. Biphasic effects of cannabinoids on acetylcholine release in the hippocampus: site and mechanism of action. *J Neurosci.* 2003 Oct;23(28):9374-84.
29. Hampson R, Deadwyler S. Cannabinoids reveal the necessity of hippocampal neural encoding for short-term memory in rats. *J Neurosci.* 2000 Dec;20(23):8932-42.