بررسی اثر آگونیست ها و آنتاگونیست های گیرنده های آلفا_۱_ و آلفا_۲_ آدرنرژیک در ناحیه هیپوکامپ پشتی بر روی یادگیری وابسته به وضعیت کانابینوئیدها

اعظم مشفق[۱] ، پروین بابایی[۲]، مرتضی پیری*[۳]، شهربانو عریان[۱] ، بهرام سلطانی[۲] ، محمدرضا زرین دست [٤]

چکیده

کانابینوئیدها دسته ای از ترکیبات مقلد حالات روانی می باشند که اثرات متنوعی را در گونه های مختلف ایجاد می نمایند. در این مطالعه نقش گیرنده های آلفا _ ۱ و آلفا _ ۲ آدرنرژیک هیپوکامپ پشتی 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 پشتی ، در دستگاه یادگیری اجتنابی مدل step-down آموزش دیدند و ٢٤ ساعت بعد از آموزش تاخیر در پایین آمدن از سکو اندازه گیری شد. تزریق پس از آموزش آگونیست گیرنده کانابینوئیدی ، WIN55,212-2 (۰/۵ µg/rat ، ۰/۲۵) به ناحیه CA1 باعث القاء فراموشی می شود. فراموشی ایجاد شده با تزریق بعد از آموزش WIN55,212-2 (۰/۵ µg/rat) با تزریق همان مقدار WIN55,212-2 قبل از آزمون برمی گردد . تزریق قبل از آزمون فنیل افرین تاثیری بر روی حافظه ندارد ، اما کلونیدین می تواند باعث بهبود حافظه تخریب شده با WIN55,212-2 شود. بعلاوه تزریق فنیل افرین یا کلونیدنین به همراه دوز غیر موثر WIN55,212-2 به صورت سینرژیک باعث اصلاح فراموشی القاء شده با WIN55,212-2 می شود.از طرف دیگر تزریق قبل از آزمون پرازوسین یا یوهمبین به ناحیه CA1 ۲ دقیقه قبل ازWIN55,212-2 ، جلوی پیشرفت حافظه با WIN55,212-2 روز آزمون را می گیرد. این مشاهدات نشان می دهد که گیرنده های آلفا ـ آدرنرژیک ناحیه CA1 هیپوکامپ نقش مهمی در فراموشی القاء شده با کانابینوئیدها و یادگیری وابسته به وضعیت کانابینوئیدها دارند .

کلمات کلیدی : کانابینوئیدها ، گیرنده های آلفا ـ آدرنرژیک ، هیپوکامپ پشتی ، حافظه اجتناب مهاری ، یادگیری وابسته به وضعیت

مقدمه

کانابینوئیدها ترکیبات موجود در گیاه شاهدانه و آنالوگ های صناعی از مشتقات اسیدهای چرب به ویژه اسید آراشیدونیک می باشند . هزاران سال است که حشیش و ماری جوانا 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 نام های CB1 ، CB2 وCB3 (گیرنده های غیر CB1 / CB2) اعمال می نمایند [۱۷] . مطالعات صورت گرفته با تست های رفتاری مختلف مانند ماز شعاعی ، ماز آبی موریس و تست حافظه اجتنابی مهاری نشان می دهد که بیشتر اثرات رفتاری آندوکانابینوئیدها توسط گیرنده های کانابینوئیدی CB1 میانجی گری می شود[۲۱] . باید توجه داشت که کانابینوئیدهای درون زاد علاوه بر اثر بر روی گیرنده های کانابینوئیدی می توانند مستقیماً بر روی برخی از گیرنده های غیر کانابینوئیدی اثر کرده و عملکرد آنها را

*- نویسنده مسئول مکاتبات (biopiri@yahoo.com)
۱- گروه زیست شناسی ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات
۲- مرکز تحقیقات سلولی مولکولی ، دانشگاه علوم پزشکی گیلان
۳- گروه زیست شناسی ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل
٤- گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی و مرکز ملی مطالعات اعتیاد، دانشگاه علوم پزشکی تهران

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 ، اوپیوئیدها 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 انتورینال و آمیگدال تزریق می شوند شکل گیری حافظه را تقویت می نمایند[٤] . همچنین نورآدرنالین بر روی بسیاری از فرآیندهای مرکزی که تحت تأثیر 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 القا شده با کانابینوئیدها مورد بررسی قرار گرفته است .

مواد و روش کار

جانوران مورد آزمایش

در این مطالعه تجربی از موش صحرایی نر نژاد ویستار (وزن تقریبی۲۵۰–۲۰۰ 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 ۳ ± ۲۲ 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 ١٤ انجام شد .

دستگاه یادگیری اجتنابی مدل Step-down

دستگاه یادگیری اجتنابی مهاری (غیر فعال)[1] ، مدل Step-down ، جعبهٔ چوبی به ابعاد (٤٠×۳۰×٤٠cm) می باشد. کف دستگاه دارای میلهٔ 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 (۷ cm ×۱۰×۱۲) 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 نسبتا 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 ـ ۱ آدرنرژیک) ، کلونیدین (آگونیست گیرنده آلفا ـ ۲ آدرنرژیک) ، پرازوسین (آنتاگونیست گیرنده آلفا ـ ۱ آدرنرژیک) و یوهمبین (آنتاگونیست گیرنده آلفا ـ ۲ آدرنرژیک) (سیگما ، آمریکا) که بلافاصله قبل از آزمایش ها داروهای فنیل افرین ، پرازوسین ، کلونیدین و یوهمبین در سرم فیزیولوژیک استریل ۰/۹ درصد حل گردید

1 - inhibitory (passive) avoidanse apparatus

و داروی WIN55, 212-2 در محلول حاملی [۲] حل شد که ۹۰ درصد آن سرم فیزیولوژیک استریل ۰/۹ درصد و ۱۰ درصد باقی مانده آن دی متیل سولفوکسید [۳] بود که سرانجام به محلول فوق یک قطره روغن توئین ۸۰ [٤] اضافه می شد.

روش جراحی و کانول گذاری در ناحیه پشتی هیپوکامپ (CA1)

موش های صحرایی توسط تزریق کتامین هیدروکلراید [٥] (۵۰ mg/kg) بعلاوه زیلزین [٦] (٤ mg/kg) بی هوش شدند . بعد از بی هوشی حیوانات در دستگاه استریوتاکسی قرار داده شده و دو کانول راهنمای (G ۲۲)[۷] به صورت دو طرفه بر اساس اطلس پاکسینوس و واتسون (۱۹۹۷) در هیپوکامپ پشتی قرار داده شد. مختصات ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی برابر (AP = -۳/۲ ، ML = ±۲ ، V = -۳) می باشد[١٤] . روش اجتنابی مهاری برای بررسی حافظه در موش های صحرایی در دو روز متوالی انجام می شود. روز اول یا روز آموزش[۸] شامل آموزش دادن حیوان ها در دستگاه بود و در روز دوم یا روز آزمون[۹] میزان حافظه حیوان های آموزش دیده بررسی می شود .

مرحله آموزش

در روش اجتنابی مهاری مدل step-down ، هر حیوان به آرامی روی سکوی مکعبی دستگاه ارزیابی حافظه قرار می گیرد و مدت زمان توقف روی سکو (قبل از پایین آمدن) ثبت می شود . بلافاصله بعد از پایین آمدن موش از مکعب چوبی و قرار گرفتن چهار پای موثر بر روی میله های فولادی به مدت ۵ ثانیه شوک الکتریکی با شدت یک میلی آمپر توسط حیوان دریافت می شود. بلافاصله بعد از اتمام شوک حیوانات از دستگاه یادگیری اجتنابی خارج می شدند و تزریق بعد از آموزش را دریافت می کردند .

مرحله آزمون یا بررسی حافظه

جلسهٔ آزمون ٢٤ساعت بعد از آموزش ، مشابه آموزش انجام می شود به جز اینکه شوکی در این روز دریافت نمی گردد. مدت زمان توقف موش بر روی سکو در روز آزمون به عنوان معیار حافظه در موش اندازه گیری می شود که حداکثر زمان برای توقف موش روی سکو (زمان سقف cut-off) برابر با ۳۰۰ ثانیه می باشد . موش هایی که دارای حافظه می باشند شوک روز قبل را به یاد می آورند ، بنابراین مدت طولانی در روی سکو باقی می مانند که توقف ۳۰۰ ثانیه به عنوان حافظه کامل در نظر گرفته می شود . بالعکس حیواناتی که به دلیل دریافت دارو بعد از آموزش دچار فراموش شده اند ، شوک روز آموزش را به یاد نمی آورند و به دلیل هراس ذاتی از ارتفاع فوراً از سکو پایین می آیند .

تزریق درون مغزی دارو

برای تزریق دارو پس از برداشتن سیم داخل کانول راهنما ، سر سوزن G ۲۷ دندانپزشکی که ۱۱ میلی متر طول داشت و به کت دان تیوب[10] نوزاد (شماره ٤) متصل بود ، در داخل کانول راهنما G ۲۲ قرار داده شده ، در کانول ۰/۵ ۰میکرولیتر دارو در مدت ٦٠ ثانیه تزریق می شد . در طول تزریق به حیوان اجازه داده می شد بدون هیچ استرسی آزادانه حرکت کند.

بافت شناسی

پس از کشتن حیوان ها توسط کلروفرم با تزریق رنگ متیلن بلو۱ ٪ (۰/۵ lμ) به درون هرکانول ، مغز از درون جمجمه بیرون آورده شده و درون فرمالین ۱۰ درصد قرار می گرفت. پس از یک هفته با استفاده از تیغ جراحی در محل ورود کانول به درون مغز برش هایی 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 کانول ها در نواحی

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 ± S.E.M) ثبت گردید. به منظور تعیین وجود اختلاف معنا دار بین گروه ها آزمایش ، از روش تحلیل واریانس یک طرفه [11] و آزمون توکی[12] استفاده گردید . برای انجام محاسبات آماری از نرم افزارSPSS و رسم نمودارها از نرم افزارExcel استفاده شد .

تیمارهای دارویی و آزمایش های انجام شده

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

شش گروه حیوان در این آزمایش به کار رفت .گروه اول بلافاصله پس از آموزش سالین و گروه دوم حامل را به صورت درون مغزی (intra-CA1) دریافت کردند. دو گروه باقی مانده مقادیر مختلف WIN55, 212-2 (۰/۵ µg/rat ، ۰/۲۵) 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 سالین (۱ µl/rat) یا حامل (۱ µl/rat) را به صورت درون مغزی (intra-CA1) دریافت داشتند . دو گروه باقیمانده بلافاصله بعد از آموزش WIN55, 212-2 (۰/۵ µg/rat) را دریافت کردند و در روز آزمون مقادیر مختلف WIN55, 212-2 (۰/۵ µg/rat ، ۰/۲۵) 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 ازکانابینوئیدها .

در این آزمایش هفت گروه حیوان به کار رفت . گروه اول سالین را بلافاصله بعد از آموزش و پنج دقیقه قبل از آزمون دریافت نمود . شش گروه باقیمانده بلافاصله بعد از آموزش WIN55, 212-2 (۰/۵ µg/rat) را دریافت کردند و در روز آزمون مقدار غیر موثر WIN55, 212-2 (۰/۲۵ µg/rat) یا مقادیر مختلف فنیل افرین (µg/rat ۰/۳۰ ، ۰/۱۵) و یا مقدار غیر موثر WIN55, 212-2 (۰/۲۵ µg/rat) به همراه مقادیر مختلف فنیل افرین (µg/rat ۰/۳۰ ، ۰/۱۵) 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 ازکانابینوئیدها .

در این آزمایش هفت گروه حیوان به کار رفت . گروه اول سالین را بلافاصله بعد از آموزش و پنج دقیقه قبل از آزمون دریافت نمود . شش گروه باقیمانده بلافاصله بعد از آموزش WIN55, 212-2 (۰/۵ µg/rat) را دریافت کردند و در روز آزمون مقدار غیر موثر WIN55, 212-2 (۰/۲۵ µg/rat) یا مقادیر مختلف کلونیدین (µg/rat ۰/۵۰ ، ۰/۲۵) و یا مقدار غیر موثر WIN55, 212-2 (۰/۲۵ µg/rat) به همراه مقادیر مختلف کلونیدین (µg/rat ۰/۵۰ ، ۰/۲۵) را پنج دقیقه قبل از آزمون به صورت درون مغزی (intra-CA1) دریافت داشتند (نمودار ۳) .

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

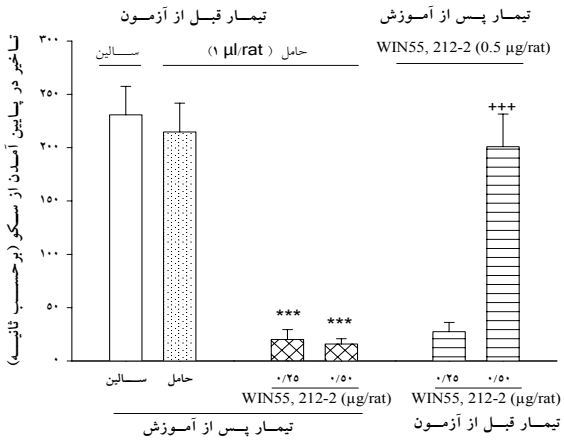
در این آزمایش پنج گروه حیوان به کار رفت . تمامی گروه ها در روز آموزش WIN55, 212-2 (۰/۵ µg/rat) را بلافاصله بعد از آموزش دریافت کردند . در روز آزمون ، یکی از گروه ها سالین بعلاوه WIN55, 212-2 (۰/۵ µg/rat) ، دو گروه دیگر مقادیر مختلف پرازوسین (µg/rat ۱ ، ۰/۵) بعلاوه WIN55, 212-2 (۰/۵ µg/rat) و دو گروه باقیمانده مقادیر مختلف یوهمبین (µg/rat ۰/۵، ۰/۲۵) بعلاوه WIN55, 212-2 (۰/۵ µg/rat) را به صورت درون مغزی (intra-CA1) ، پنج دقیقه قبل از آزمون دریافت داشتند . (نمودار ٤) .

11- ANOVA
12- Tukey ś test

نتایج

۱- آزمایش اول : اثرWIN55, 212-2 بر روی حافظه اجتنابی مهاری .

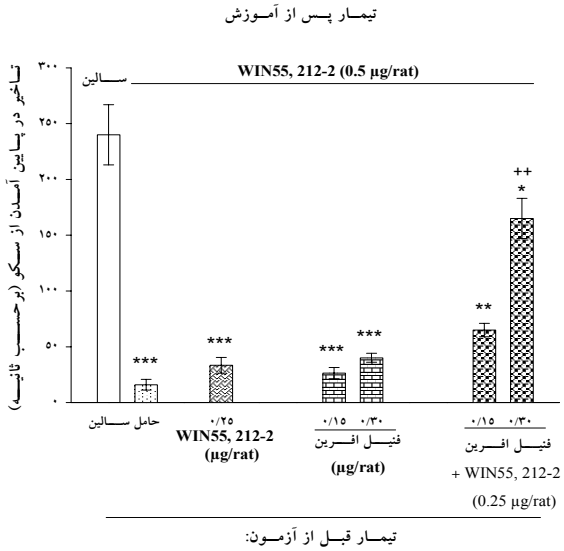
آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که تزریق پس از آموزش WIN55, 212-2 حافظه را تغییر می دهد [F (۳، ۲۸) = ۳۱/۲٦، p < ۰/۰۰۱] . انجام آزمون مکمل توکی نشان داد که تزریق پس از آموزش WIN55, 212-2 (۰/۵ µg/rat, intra-CA1 و ۰/۲۵) تاخیر پایین آمدن از سکو ، یا به اصطلاح میزان حافظه را در ۲٤ ساعت بعد کاهش داد. بعلاوه بکار بردن WIN55, 212-2 قبل از آزمون قادر به بهبود حافظه تخریب شده با WIN55, 212-2 روز آ موزش می باشد[F (۲، ۲۱) = ۳۰/۱۷، p < ۰/۰۰۱] . آزمون مکمل توکی نشان داد که WIN55, 212-2 (۰/۵ µg/rat) قادر به بازگرداندن حافظه تخریب شده می باشد .



نمودار ۱ ـ اثر تزریق پس از آموزش و پیش آزمون WIN55, 212-2 بر حافظه اجتنابی مهاری . ۰/۰۰۱ >P* در مقایسه با گروه سالین/ سالین و ۰/۰۰۱ > P+++ در مقایسه با حامل/ WIN55, 212-2 (۰/۵ µg/rat) می باشد .**

۲- آزمایش دوم : نتایج تزریق درون مغزی فنیل افرین قبل از آزمون بر روی حافظه تخریب شده توسط کانابینوئیدها

آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون مکمل توکی نشان داد که فنیل افرین (۰/۳۰µg/rat، ۰/۱۵) در مقادیر بکار رفته در این آزمایش و مقدار غیر موثر WIN55, 212-2 (۰/۲۵ µg/rat) به تنهایی قبل از آزمون قادر به اصلاح حافظه تخریب شده با WIN55, 212-2 (۰/۵ µg/rat) روز آموزش نمی باشد و حافظه گروه های دریافت کننده این داروها تفاوت معنی دار با گروه کنترل دارد [۰/۰۰۱> p ،۱۷/۳٤= (٦، ٤۹) F].اما مقادیر غیر موثر فنیل افرین (۰/۳۰ µg/rat ، ۰/۱۵) به همراه مقدار غیر موثر WIN55, 212-2 (۰/۲۵ µg/rat) می تواند حافظه تخریب شده با WIN55, 212-2 (۰/۵ µg/rat) روز آموزش را اصلاح نماید [۰/۰۱ > p ،٦/۲۵= (۵، ٤۲) F] .

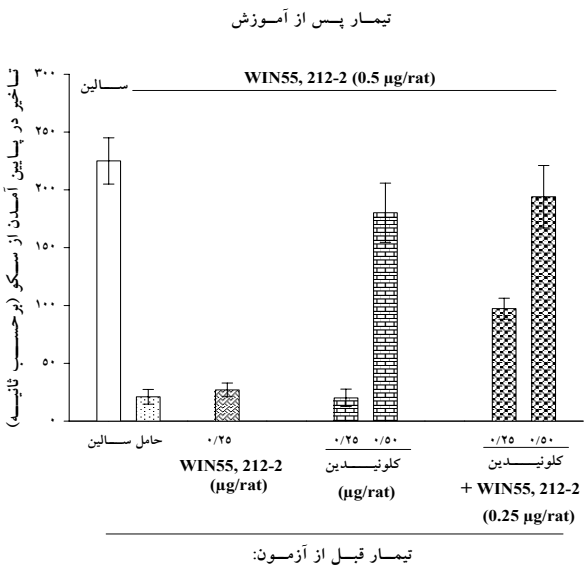


نمودار ۲- اثر فنیل افرین بر حافظه اجتنابی تخریب شده با WIN55, 212-2 . ۰/۰۰۱ > P* در مقایسه با گروه سالین/ سالین و ۰/۰۱ > P++ در مقایسه با WIN55, 212-2 (۰/۵ µg/rat) / حامل می باشد .**

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 (۰/۲۵ µg/rat) و مقدار غیر موثر WIN55, 212-2 (۰/۲۵ µg/rat) به تنهایی قبل از آزمون قادر به اصلاح حافظه تخریب شده با WIN55, 212-2 (۰/۵ µg/rat) روز آموزش نمی باشد و حافظه گروه های دریافت کننده این داروها تفاوت معنی دار با گروه کنترل

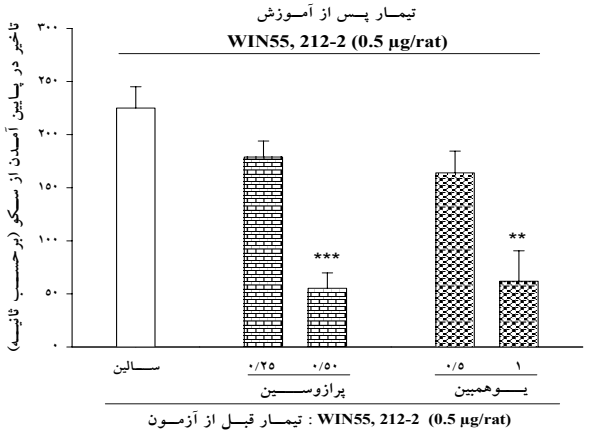
دارد [F (٦، ٤٩) =١٣/٦٢، p <٠/٠٠١] . اما مقادیر مختلف کلونیدین (٠/٢٥، ٠/٥٠ µg/rat) به همراه مقدار غیر موثر WIN55, 212-2 (٠/٢٥ µg/rat) و کلونیدین (٠/٥ µg/rat) به تنهایی می تواند حافظه تخریب شده با WIN55, 212-2 (٠/٥ µg/rat) روز آموزش را اصلاح نماید [F (٥، ٤٢) =١٠/٣٧، p > ٠/٠١] .



نمودار ٣- اثر کلونیدین بر حافظه اجتنابی تخریب شده با WIN55, 212-2 . ***P < ٠/٠٠١ **در مقایسه با گروه سالین/ سالین و** P <٠/٠٠١ +++ ، P < ٠/٠٥+ **در مقایسه با** WIN55, 212-2 (µg/rat ٠/٥) / **حامل می باشد .**

٤ – آزمایش چهارم : نتایج تزریق درون مغزی قبل از آزمون پرازوسین و یوهمبین بر روی یادگیری وابسته به وضعیت کانابینوئیدها

آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که بکار بردن پرازوسین یا یوهمبین قبل از آزمون بازگشت حافظه القاء شده با WIN55, 212-2 روز آزمون را در موش هایی که در روز آموزش نیز تحت تاثیر WIN55, 212-2 قرار داشتند کاهش می دهد[F (٤، ٣٥) = ٩/٨٧، p < ٠/٠٠١] . آزمون مکمل توکی نشان داد که پرازوسین (٠/٥ µg/rat) و یوهمبین (١ µg/rat) می تواند یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با WIN55, 212-2 را مهار می نماید .



نمودار ٤ ـ اثر پرازوسین و یوهمبین بر روی یادگیری وابسته به وضعیت WIN55, 212-2 . ***P < ٠/٠٠١ ، **P < ٠/٠١ **در مقایسه با گروه** WIN55, 212-2 (µg/rat ٠/٥) / WIN55, 212-2 (µg/rat ٠/٥) **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 [٣] . مطالعات نشان می دهند آگونیست گیرنده های CB1 مراحل مختلف پردازش حافظه مانند اکتساب [13] و تثبیت [14] حافظه را تحت تأثیر قرار می دهد[١٠] . 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

13 - acquisition
14 - consolidation

میانجی های عصبی مختلف می شود [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 برمی گردد . 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 می شود[۲۲] . این نتایج نشان می دهد که کانابینوئیدها یادگیری وابسته به وضعیت ایجاد می نماید . یادگیری وابسته به وضعیت پدیده ای است که توسط برخی از داروهای مقلد حالات روانی در انسان ایجاد می شود [۱۲] . در این پدیده به یاد آوری اطلاعات تازه کسب شده تنها زمانی امکان پذیر می باشد که جاندار درزمان به خاطر آوردن اطلاعات در همان شرایطی قرار گیرد که در زمان کدبندی [۱۵] اطلاعات در آن قرار داشته است [۱۹] . این شرایط یکسان می تواند با به کار بردن دارو در روز آموزش و آزمون ایجاد گردد . سیستم کانابینوئیدی و سیستم اپیوئیدی شباهت های زیادی با یکدیگر دارند ، مطالعات پیشین نشان می دهند که مرفین یادگیری وابسته به وضعیت ایجاد می نماید [۲۲] و داروهای آلفا-۲-آدرنرژیک می توانند یادگیری وابسته به وضعیت القا شده با مورفین را تحت تاثیر قرار دهند [۸] . با در نظر گرفتن شواهد فوق این احتمال وجود دارد که اثرات کانابیوئیدها بر روی حافظه از طریق گیرنده های آدرنرژیک میانجی گری شود ، بنابراین در این مطالعه ما اثرات تزریق قبل از آزمون آگونیست های گیرنده های آلفا-آدرنرژیک را بر روی حافظه ی اجتنابی مهاری تخریب شده با کانابینوئیدها و همچنین اثر آنتاگونیست های آلفا-آدرنرژیک را بر روی یادگیری وابسته به وضعیت القا شده با کانابینوئیدها مورد بررسی قرار داده ایم.

یافته های ما نشان می دهد که تزریق قبل از آزمون آگونیست گیرنده ی آلفا-۲ ، کولینیدین باعث بازگشت حافظه ی تخریب شده با تزریق پس از آموزش WIN55,212-2 می شود. بعلاوه نتایج ما در این تحقیق نشان می دهد 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 می شود . این نتایج نشان می دهد که WIN55,212-2 با آگونیست های گیرنده های آلفا ـ آدرنرژیک دارای اثر سینرژیک می باشند و فنیل افرین و کلونیدین قادر به تقلید اثر WIN55,212-2 روز آزمون در بهبود حافظه می باشند . مطالعات قبلی نشان می دهد که تزریق پس از آموزش آگونیست های آدرنرژیک نظیر اپی نفرین ، آمفتامین و فنیل افرین باعث تقویت حافظه ای که قبلاً توسط روش های مختلف تخریب شده ، می شود[۵] . نتایج ما شاید موافق با مطالعات قبلی باشد که نشان می دهد کولینیدین قادر به اصلاح حافظه ی تخریب شده با آنتاگونیست های گیرنده های NMDA مانند MK-801 یا فنسیکلیدین [۱۶] می باشد. مکانیسمی که از طریق آن گیرنده های آدرنرژیک فرآیند حافظه را تحت تأثیر قرار می دهد کاملاً مشخص نمی باشد اما به نظر می رسد به توانایی این گیرنده ها در تعدیل انتقال پیام های گلوتاماتی در محل سیناپس مربوط باشد . این تعدیل از طریق G پروتئین های جفت شده با گیرنده های آدرنرژیک صورت می گیرد[۵] .

در این مطالعه اثر تزریق قبل از آزمون آنتاگونیست گیرنده های آلفا-۱ ، پرازوسین و آنتاگونیست گیرنده های آلفا-۲-آدرنرژیک ، یوهمبین در حضور WIN55,212-2 بر روی حافظه اجتنابی مهاری مورد بررسی قرار گرفت . نتایج ما نشان می دهد که در حیواناتی که مقادیر مؤثر WIN55,212-2 را بعد از آموزش و قبل از آزمون دریافت کرده اند تزریق قبل از آزمون پرازوسین یا یوهمبین مانع بهبود حافظه توسط

15 - *encoding*

16 - phencyclidine

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 پشتی می توان بیان داشت که یادگیری وابسته به وضعیت کانابینوئیدها در ارتباط با فعال شدن سیستم آدرنرژیک در هیپوکامپ پشتی 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.

3- Clarke JR, Rossato JI, Monteiro S, Bevilaqua 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- Kobilo 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.

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.

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.