فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی و تکوین جانوری
شماره پیاپی ۳۴، جلد ۹، شماره ۳، تابستان ۹۵، صفحه ۱۳ تا ۲۰

بررسی اثر عصاره وارنگبو بر یادگیری وابسته به وضعیت آگونیست کانابینوئید(win 55212-2) در موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر تحت استرس بی‌حرکتی

راحله برقعی[۱]، **رامش احمدی**[۲]، سعیده پیشقدم[۲]
۱–کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم. ایران.
۲–استادیار زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم. ایران.ramamd@yahoo.com

تاریخ دریافت:۹٤/۱۲/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۵/٤/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: آگونیست های کانابینوئیدی CB1، سیستم نوروترانسمیتری گاباارژیک و سروتونرژیک را در سطح مولکولی فعال می کنند. عملکرد این نوروترانسمیترها در حافظه و یادگیری شناخته شده است. وارنگبو نیز دارای خاصیت گاباارژیک و آرام‌بخشی است که بر استرس و اضطراب موثر می باشد. گیاه وارنگبو از طریق ترکیبات ترپنی و آنتی‌اکسیدانی خود بر حافظه و یادگیری اثر دارد. هدف از این پژوهش بررسی اثر عصاره وارنگبو بر یادگیری وابسته به وضعیت آگونیست کانابینوئید(win 55212-2) در موش‌های کوچک آزمایشگاهی نرتحت استرس بی‌حرکتی است.

روش کار: در این مطالعه اثر تزریق درون صفاقی عصاره هیدروالکلی وارنگبو بر یادگیری وابسته به وضعیت آگونیست کانابینوئید(win 55212-2) در موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر تحت استرس بی‌حرکتی و مدل step down جهت بررسی حافظه مورد استفاده قرار گرفت .

یافته ها: تزریق درون صفاقی win 55212-2 با غلظت ۱ و ۵ /۰(mg/kg) پیش از آموزش به گروه های بدون استرس منجر به کاهش حافظه و تزریق پیش از آزمون افزایش حافظه را به دنبال داشت. تزریق درون صفاقی win 55212-2 (۱mg/kg) پیش از آموزش و عصاره وارنگبو (۲۵ mg/kg) پیش از آزمون در موش های تحت استرس بی حرکتی، سبب افزایش حافظه گردید.

نتیجه گیری: win 55 212-2با غلظت ۱ و ۵ /۰(mg/kg) سبب ایجاد یادگیری وابسته به وضعیت شد.

واژه های کلیدی: win 55212 -2 ، یادگیری وابسته به وضعیت، وارنگبو، استرس بی‌حرکتی، موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر.

مقدمه

یادگیری وابسته به وضعیت، پدیده‌ای است که در آن یادآوری اطلاعاتی که جدیداً کسب نموده، تنها در شرایطی امکان‌پذیر می‌باشد که حیوان از لحاظ حسی و فیزیولوژیک در همان شرایطی قرار گیرد که در هنگام کدبندی اطلاعات در آن شرایط قرار داشته است(۳). مکانیسم دقیق تاثیر کانابینوئیدها بر حافظه و یادگیری شناخته نشده است. با این حال مطالعات تاثیر کانابینوئیدها را روی انعطاف‌پذیری سیناپسی نشان می‌دهد که آگونیست های CB1 سبب از هم گسیختگی LTP می شود، این پدیده اولین‌بار در هیپوکامپ مشاهده شد(۱۲، ۸). کانابینوئیدها جز داروهای مقلد حالات روانی می‌باشند که از گیاه شاهدانه استخراج می‌شوند. اثرات کانابینوئیدها از بسیاری جهات مشابه اپیوئیدهاست(۲۷). داروهای مختلفی مانند اپیوئیدها(۲۶)، لیتیم(۲۱) و هیستامین(۲۰) قادر به ایجاد یادگیری وابسته به وضعیت می‌باشند. کانابینوئیدها از طریق گیرنده های CB1 که اغلب در سیستم اعصاب مرکزی وجوددارند؛ عمل می کنند. گیرنده های کانابینوئیدی CB2 نیز برسطح سلول-

های ایمنی وجوددارند. مطالعات مختلف نشان داده است که کانابینوئیدها و اپیوئیدها با سیستم‌های نوروترانسمیتری مختلف نظیر دوپامین، گابا، نیتریک اکساید(۱۳،۱۸) برهم‌کنش نشان می‌دهند و از این طریق موجب تغییرات پایدار و دراز مدت سیناپسی در الگوهای رفتاری مختلف می‌شوند(۲۸). استرس یک پاسخ داخلی است که به یک محرک خارجی یا داخلی از محیط داده می شود و هموستاز بدن را تغییر می دهد(۵،۷). مطالعات نشان داده که استرس به صورت کوتاه‌مدت و با شدت کم می‌تواند به شکل گیری حافظه کمک نماید(۱۰). از طرف دیگر استرس طولانی مدت سبب آتروفی هیپوکامپ شده(منطقه مؤثر در شناخت وحافظه) و موجب ترشح مقدار زیاد گلوکوکورتیکوئیدها می‌شود(۱۹). استرس بی‌حرکتی سبب کاهش ضخامت کورتکس، اختلال عملکرد فاکتورهای رشد نورون ها(NGF) و کاهش سلول های عصبی Betz می‌گردد(۲۶). استرس نیز روی سیستم سمپاتیک آدرنومدولاری محور HPA مؤثر است و سبب رهایی کتکولامین ها و هورمون های استرس یعنی گلوکوکورتیکوئیدها و کورتیکوسترون ها از غده آدرنال می‌شود(۹). در استرس تنظیم کورتیکوتروپین ها روی محور هیپوتالاموس ـ آدرنال توسط گابا انجام می‌گیرد که برجسته کننده اهمیت مهار گاباارژیک در تنظیم کورتیکوسترون هاست(۲۱). گیاه وارنگبو یا بادرنجبویه با نام علمی *Melissa officinalis* متعلق به خانواده Aminacea یا نعناعیان می‌باشد که در لاتین اصطلاحاً به آن Lemonbalm می گویند که به معنی آرام بخش است(۶). این گیاه بومی مناطق مدیترانه است و در شمال ایران نیز می‌روید. گیاه وارنگبو میل اتصال به گیرنده‌های استیل کولینی نیکوتینی و موسکارینی در مغز انسان دارد(۱،۲۲). تحقیقات نشان داده است که عصاره وارنگبو باعث کاهش چشمگیری در سطح مالون دی آلدئید MDA که از شاخص‌های پراکسیداسیون لیپیدهاست می‌شود(۴). وارنگبو به علت داشتن خاصیت آنتی اکسیدانی بالا و ترکیبات ترپنی، اثر ضد اضطرابی و نوروپروتکتیو در مقابل پلاک های بتاآمیلوئید دارد که در بیماری آلزایمر(بیماری نقص شناخت در حافظه) تولید می شود(۱۱). با توجه به اثر نوروپروتکتیو و آنتی اکسیدانتی گیاه وارنگبو در این مطالعه اثر این گیاه بر یادگیری وابسته به وضعیت کانابینوئید تحت استرس بی‌حرکتی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

حیوانات

در این آزمایش از موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMRI(وزن تقریبی ۳۰ ـ ۲۵ گرم) که از انستیتو پاستور ایران تهیه شده، استفاده گردید. حیوانات به حیوان خانه تحقیقاتی دانشگاه آزاد قم منتقل شده، در طول آزمایش آب و غذای کافی در اختیار آن ها قرار گرفت. دمای حیوان خانه بین۳±۲۲ درجه سانتی‌گراد متغیر بود. موش ها به گروه‌های شش‌تایی تقسیم شدند.

دستگاه Step down

مدل step down روشی برای مطالعه یادگیری و حافظه در موش های کوچک آزمایشگاهی به کار می‌رود. این مدل جعبه چوبی به ابعاد۴۰×۳۰×۳۰ سانتی متر است که در کف آن ۲۹ میله فولادی به قطر ۰/۳ سانتی‌متر به فاصله ۱ سانتی‌متر از یک دیگر و یک سکوی مکعبی چوبی به ابعاد۴×۳×۳ سانتی متر در قسمت میانی کف (روی میله‌های فلزی) قرار گرفته است. این میله‌ها به دستگاه تحریک‌کننده متصل شده و شوک الکتریکی از طریق این میله‌ها به حیوانات مورد آزمایش وارد می شود. آزمایش‌ها در اتاق تاریک و بدون سرو صدا انجام شد.

دستگاهRestrainer

این دستگاه محفظه پلاستیکی با رنگ روشن و در ابعاد مختلف به صورت نیم‌دایره با قسمت تحتانی بسته و که با دو در کشویی از طرفین باز می‌شود، است. چند

منفذ برای ورود و خروج هوا وجود دارد و حیوانات به مدت ۳۰ دقیقه قبل از آموزش و قبل از آزمون در این دستگاه تحت استرس بی‌حرکتی قرار گرفتند.

داروها

در این تحقیق داروی win55212 -2 ساخت شرکت تاکریس آمریکا و هم چنین عصاره هیدروالکلی گیاه وارنگبو مورد استفاده قرار گرفت. Win 55212-2 در سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد حل شد. تمامی داروها نیم ساعت قبل از آموزش و در روز آزمون نیم ساعت قبل از آزمون، به صورت داخل صفاقی تزریق شدند.

آزمون‌های رفتاری

بررسی حافظه در موش‌های کوچک آزمایشگاهی مدل step down در دو روز متوالی انجام شد. روز اول یا روز آموزش، شامل آموزش دادن حیوانات در دستگاه و در روز دوم یا روز آزمون، میزان حافظه حیوانات آموزش دیده بررسی شد.

مرحله آموزش

در مدل step down هر حیوان به آرامی روی سکوی مکعبی دستگاه ارزیابی حافظه قرار گرفت و مدت زمان توقف روی سکو(قبل از پایین آمدن) ثبت شد. بلافاصله بعد از پایین آمدن موش از مکعب چوبی و قرار گرفتن چهارپایه موثر روی میله‌های فولادی به مدت ۱۵ ثانیه شوک الکتریکی(۱ هرتز، ۰/۵ ثانیه، ۴۵ میلی‌ولت مستقیم) دریافت شد. شوک توسط یک محرک (Grass s44, west warnick, RI, USA) به میله‌های فولادی منتقل و مراحل آموزش در بین ساعت ۸ صبح الی ۲ بعد از ظهر انجام گرفت(۲۹).

مرحله آزمون یا بررسی حافظه

جلسه آزمون ۲۴ ساعت بعد از آموزش با پروسه‌های مشابه آموزش انجام شد. به جز این که شوکی در این روز دریافت نمی‌شد. مدت زمان توقف موش روی سکو(Step down latency)(SDL) به عنوان معیار حافظه در موش اندازه‌گیری و حداکثر زمان برای توقف موش روی سکو برابر ۳۰۰ ثانیه در نظر گرفته شد.

روش عصاره‌گیری

۱۰۰ گرم از پودر گیاه وارنگبو را به محلول ۲ لیتری الکل اتانول ۷۵٪ اضافه کرده و به مدت ۵ ساعت روی شیکر و به مدت ۷۲ ساعت در محل تاریک و دردمای۳±۲۴ درجه سانتی‌گراد غوطه ور گردید، محلول به دست آمده را سه بار از کاغذ صافی عبور داده و ماده حاصله در دستگاه Oven فن دار در دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد گذاشته تا حلال تبخیر و در نهایت بعد از تراشیدن پودر گیاه وارنگبو به ظرف تیره رنگ منتقل شده و جهت حفظ و نگهداری به یخچال انتقال یافت. در مرحله بعد دوز ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وارنگبو از طریق حل کردن پودر آن در سرم فیزیولوژی تهیه شد(۲۲).

تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از این تحقیق از نرم افزار SPSS با به کارگیری آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA و آزمون مقایسه زوج‌ها (Paired samples test) و سطح معنی‌دار در همه این حالات P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد. رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel صورت گرفت و نمودارهای میانگین به صورت Mean ± SEM نمایش داده شد.

نتایج

اثر تجویز کانابینوئید(win55212 -2) قبل از آموزش بر میزان SDL

در حیواناتی که win55212 -2 (۱ mg/kg و ۰/۵) قبل از آموزش و سالین قبل از آزمون دریافت کرده اند در مقایسه با گروه کنترل(سالین +سالین) کاهش معنی‌دار در میزان حافظه مشاهده شد(P<۰/۰۱). در بررسی گروهی که win55212 -2 با دوز(۱ و ۰/۵ mg/kg) قبل از آزمون دریافت کرده اند و سالین قبل از آموزش با گروه کنترل مشاهده می شود که میزان حافظه افزایش معنی‌دار داشت(P< ۰/۰۵).

اثر تجویزاسترس بی حرکتی قبل و بعد از آموزش بر میزان SDL

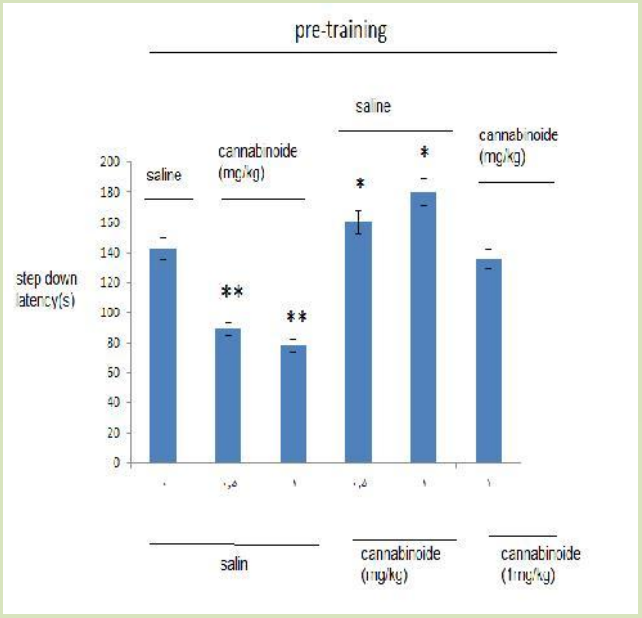
نمودار ۲ نشان می دهد که گروه دریافت کننده سالین قبل از آموزش و استرس بی حرکتی قبل از آزمون نسبت به گروه کنترل کاهش معنی دار در میزان SDL وجود دارد(P< ۰/۰۵). در گروه دریافت کننده استرس بی حرکتی قبل از آموزش و سالین قبل از آزمون در مقایسه با گروه کنترل(سالین) اختلاف معنادار مشاهده نمی شود و در گروه دریافت کننده اثراسترس بی‌حرکتی قبل از آموزش و استرس بی حرکتی قبل از آزمون در مقایسه با گروه کنترل(سالین) کاهش معنادار مشاهده می شود(P<۰/۰۰۱).

اثرعصاره وارنگبو برمیزان(SDL) در موش‌های تحت تیمار با استرس بی حرکتی و win55212

اثر تجویز سالین پیش ازآموزش و عصاره وارنگبو پیش از آزمون با گروه کنترل اثری بر میزان(SDL) نداشت. در مقایسه اثر تجویزwin55212 (۱ mg/kg) قبل از آموزش و وارنگبو قبل از آزمون با گروه کنترل کاهش درمیزان SDL نشان داد(P<۰/۰۱). مقایسه اثر استرس بی حرکتی قبل از آموزش و وارنگبو قبل از آزمون با کنترل اختلاف معنادار نشان نداد. در مقایسه اثر تجویزwin55212(۱ mg/kg) و استرس قبل از آموزش و وارنگبو قبل از آزمون با گروه کنترل افزایش در میزان SDL مشاهده شد(P<۰/۰۵). مقایسه اثر تجویز win55212 و استرس قبل از آموزش و وارنگبو قبل از آزمون نسبت به گروه win55212 قبل از آموزش و وارنگبو قبل از آزمون افزایش معنی دار در میزان SDL نشان داد(P< ۰/۰۱). در مقایسه اثر تجویز win55212 و استرس قبل از آموزش و وارنگبو قبل از آزمون نسبت به گروه سالین + وارنگبو افزایش معنی دار در میزان SDL مشاهده شد(P<۰/۰۵). هم چنین در مقایسه اثر تجویز win55212 و استرس قبل از آموزش و وارنگبو قبل از آزمون نسبت به گروه استرس + وارنگبو افزایش معنی دار در SDL(P<۰/۰۵) و مقایسه اثر تجویز win55212(۱mg/kg) قبل از آموزش و وارنگبو قبل از آزمون نسبت به گروه سالین قبل ازآموزش و وارنگبو قبل از آزمون کاهش معنی دار در میزان SDL نشان داد(P<۰/۰۱). در مقایسه گروه استرس قبل از آموزش و وارنگبو قبل از آزمون نسبت به گروه سالین قبل از آموزش و وارنگبو قبل از آزمون افزایش معنی دار در میزان SDL نشان داد(P<۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می دهد که تجویز کانابینوئید2-win 55212(۱و ۰/۵ mg/kg) در موش‌های تحت استرس پیش ازآموزش و وارنگبو پیش از آزمون باعث افزایش درسطحSDL می شود. همان طور که در نمودار ۱ مشاهده می شود. تجویز کانابینوئید قبل از آموزش باعث افزایش در سطح حافظه گردیده، در حالی که تجویز کانابینویید قبل از آزمون باعث کاهش حافظه شد. به این وضعیت حافظه وابسته به وضعیت می‌گویند. مطالعات نشان می دهند که گیرنده های CB1 به مقدار زیادی در هیپوکامپ بیان می شوند. هم چنین مطالعات نشان می دهد که آگونیست های گیرنده هایCB1 می توانند حافظه و یادگیری را تحت تاثیر قراردهند(۱۶). گیرنده‌های کانابینوئیدی CB1 در پایانه اکسونی نورون‌های پیش سیناپسی قرار داشته و فعال شدن این گیرنده‌ها رهایش میانجی‌های عصبی مانند گلوتامات، استیل کولین، دوپامین،و گابا رادر هیپوکامپ کاهش می‌دهند(۲۳).

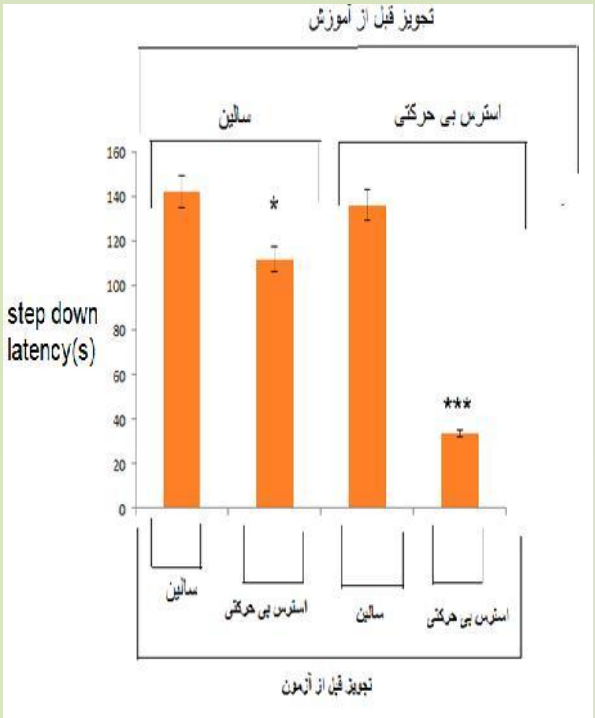


نمودار ۱-مقایسه اثرتجویز win 55212-2 **قبل از آموزش و آزمون نسبت به گروه کنترل در میزان تاخیر پایین آمدن از سکو (SDL)**

** اختلاف معنی دار نسبت به گروه سالین – سالین است(P<۰/۰۱).

*اختلاف معنی دار نسبت به گروه سالین – سالین است(P<۰/۰۵).

ستون ها بیان گر Mean±SEM است (n=6)

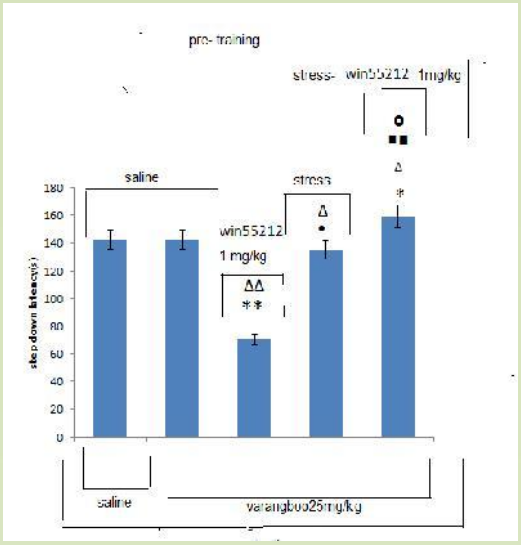


نمودار ۲- مقایسه اثر تجویز سالین و استرس بی‌حرکتی قبل از آزمون و آموزش در میزان تاخیر پایین آمدن سکو.

** اختلاف معنی دار نسبت به گروه سالین – سالین است(P<۰/۰۱).

*اختلاف معنی دار نسبت به گروه سالین – سالین است(P<۰/۰۵).

ستون ها بیا نگر Mean±SEM است (n=6)



نمودار۳- بررسی همزمان win 55212-2(۱ mg/kg) قبل از آموزش و وارنگبو قبل از آزمون بر میزان SDL)

** اختلاف معنی دار نسبت به گروه سالین – سالین است(P<۰/۰۱).

● اختلاف معنی دار نسبت به گروه کانابینوئید 1+ mg/kg استرس بی حرکتی است(P<۰/۰۵).

ΔΔ اختلاف معنی دار نسبت به گروه سالین+ وارنگبو است(P<۰/۰۱).

Δ اختلاف معنی دار نسبت به گروه سالین+ وارنگبو است(P<۰/۰۵).

⊙ اختلاف معنی دار نسبت به گروه سالین + وارنگبو است(P<۰/۰۵).

■ ■ اختلاف معنی دار نسبت به گروه کانابینوئید + وارنگبو است(P<۰/۰۱).

● اختلاف معنی دار نسبت به گروه استرس بی حرکتی + وارنگبو است(P<۰/۰۵).

با توجه به اهمیت این میانجی‌های عصبی در حافظه و یادگیری، احتمالاً تزریق قبل از آزمون2-win55212 (۱و ۰/۵ mg\kg) به واسطه کاهش رهایش استیل کولین، گابا، دوپامین، گلوتامات و مهار تقویت درازمدت سیناپسی LTP باعث تخریب حافظه می‌شود(۱۴)، که مطابق با نتیجه حاضر است. مکانیسم دقیق تاثیر کانابینوئیدها بر حافظه و یادگیری شناخته نشده است. همان طور که در نمودار ۲ مشاهده می شود استرس بی-حرکتی ایجاد حافظه وابسته به وضعیت می کند. با این مکانیسم استرس با بروز حساسیت گیرنده‌های دوپامینی، گلوتاماتی و اپیوئیدی در ناحیه تگمنتوم شکمی و هسته اکومبنس همراه است(۱۵). کانابینوئیدها، نورون های دوپامینرژیک مزوپری فرونتال کورتیکال را فعال کرده و سبب آزادسازی دوپامین می شود که رسپتور D1 دوپامین، با تزریق win 55212-2 اثر بازدارنده روی آزادی گابا از اینترنورون های گابا ارژیک دارد(۱۱).

گیاه وارنگبو میل اتصال به گیرنده‌های استیل کولینی نیکوتینی و موسکارینی در مغز انسان دارد(۲۲، ۱). تحقیقات نشان داده است که عصاره وارنگبو باعث کاهش چشم‌گیری در سطح مالون دی آلدئید MDA که از شاخص‌های پراکسیداسیون لیپیدهاست می‌شود(۴). عصاره وانگبو باعث مهار گابا ترانس آمیناز شده که منجر به تداوم حضور گابا در سیناپس‌ها می گردد(۱۴). هم چنین مطالعات نشان می دهد که وارنگبو یادگیری وابسته به وضعیت اتانول در موش های تحت درمان با نیکوتین ایجاد می کند(۲۳). وارنگبو می تواند بر یادگیری وابسته به وضعیت مورفین در موش های تحت درمان با نیکوتین موثر باشد(۲۴). وارنگبو رسپتورهای نیکوتینی را تحریک کرده و با داشتن خاصیت پلی فنلی و تری‌ترپنوئیدی و مکانسیم‌های آنتی‌اکسیدانی رسپتورهای نیکوتینی وارنگبو، اثر محافظتی روی نورون-ها در مقابل اثر توکسیک بتا آمیلوئید ایجاد می‌کند که

سبب بهبود عملکرد حافظه و هم چنین کاهش استرس و اضطراب می‌شود(۶). عصاره وارنگبو دارای خاصیت آنتی‌کولین استرازی است که احتمال می‌رود، به خاطر ترکیبات رزمانیک اسید و گلیکوزیدهای مونوترپن آن باشد که بر روی حافظه رت ها مؤثر است(۹). بنابراین به نظر می‌رسد فراموشی القا شده با کانابینوئیدها با اثر عصاره وارنگبو روی فرآیند تثبیت حافظه به حالت عادی برمی‌گردد. هم چنین احتمال می رود با توجه به خاصیت آنتی‌کولینسترازی و وجود ترکیبات بتاکاریوفیلن گیاه وارنگبو می‌تواند، با رسپتور CB_2 کانابینوئیدی لیگاند شده و گیرنده‌های نیکوتینی را تحریک نماید(۵). و خاصیت گاباارژیک عصاره وارنگبو در هنگام استرس، نهایتاً باعث مهار اثرات کورتیکوسترون بر حافظه و سبب کاهش استرس می‌شود، لذا وارنگبو می‌تواند بر یادگیری وابسته به وضعیت کانابینوئیدها تحت شرایط استرس بی‌حرکتی مؤثر باشد(۲). استرس نیز روی سیستم سمپاتیک آدرنومدولاری محور HPA مؤثر است و سبب رهایی کتکولامین ها و هورمون های استرس یعنی گلوکوکورتیکوئیدها و کورتیکوسترون ها از غده آدرنال می‌شود(۲۳، ۱۷). در استرس تنظیم کورتیکوتروپین ها روی محور هیپوتالاموس ـ آدرنال توسط گابا انجام می‌گیرد که بیان کننده اهمیت مهار گاباارژیک در تنظیم کورتیکوسترون ها است(۲۴). تداخل اثر گیرنده‌های کانابینوئیدی در بازولترال آمیگدال توسط اگونیست کانابینوئیدی win 55212-2 واستریس بی‌حرکتی، سبب تقویت اثرتحریکی win همراه با استرس می‌شود. احتمال می‌رود اثر استرس و کانابینوئیدها بر روی تنظیم انتقال سیناپسی و آزاد سازی گابا باشد(۲۵، ۲۲). با توجه به خاصیت گابا ارژیک عصاره وارنگبو، در هنگام استرس، نهایتاً باعث مهار اثرات کورتیکوسترون ها بر حافظه شده و سبب کاهش استرس می گردد، بنابراین وارنگبو توانست به واسطه خاصیت گاباارژیک و تنظیم سیناپتیک، افزایش یادگیری وابسته به وضعیت win 55212-2 تحت شرایط استرس بی‌حرکتی را باعث شود، اما در به خاطرآوری اثری نداشت.

منابع

۱–پیری، م.، زرین دست، م.، شاهین، م. ۱۳۸۸. تاثیر گیرنده های موسکارینی ناحیه هیپوکامپ پشتی بر یادگیری وابسته به وضعیت کانابینوئیدها در مدل یادگیری اجتنابی مهاری. فصلنامه علمی – پژوهشی زیست شناسی جانوری،۳; ۱۵–۲۱.

2.Akirav, I. (2011). The role of cannabinoids in modulating emotional and non-emotional memory processes in the hippocampus. Front Behav Neurosci, 34; 1-11.

3.Delgado, A., Jaff´e. E.H. (2011). Acute immobilization stress modulate GABA release fromrat Olfactory Bulb: Involvement of endocannabinoids—cannabinoids and acute stress modulate GABA Releas. Article ID 529851, 10.

4.Calabrese, F., Molteni, R., Riva, MA. (2011). Antistress properties of antidepressant drugs and their clinical implications. Pharmacol Ther, 132; 39-56.

5.Carnat, AP., Carnat, A., Fraisse, D., Lamaison, JL. (1998). The aromatic and polyphenolic composition of lemon balm (*Melissa officinalis* L. subsp. Officinalis) tea. Pharm Acta Helvetiae, 72; 301-5.

6.Hohmann, J., Zupko, I., Redei, D., Csanyi, M., Falkay, G., Mathe, I. (1999). Protective effects of the aerial parts of *Salvia officinalis* , *Melissa officinalis* and *Lavandula angustifolia* and their constituents against enzyme-dependent and enzyme-independent lipid peroxidation. Planta Med, 65(6); 576-8.

7.Dastmalchi, K., Ollilainen, V., Lackman, P., Afgennas, BG., Dorman, HJ., Yli Kauhaluma, J. (2009). Acetylcholinesterase inhibitory guided fractionation of *Mellifa officinalis* L. Bio.& Med.chem, 17; 867-71.

8.De Oliveira Alvares, L., De Oliveira, LF., Camboim, C., Diehl, F., Genro, BP., Lanziotti, VB. (2005). Amnestic effect of intrahippocampal AM251, a CB1- selective blocker, in the inhibitory avoidance, but not in

the open field habituation task, in rats. Neurobiol Learn Mem, 83; 119-124.
9.De Oliveira Alvares, L., Pasqualini Genro, B., Diehl, F., Quillfeldt, JA. (2008). Dfferential role of the hippocampal endocannabinoid system in the memory consolidation and retrieval mechanisms. Neurobiol Learn Mem, 90; 1-9.
10. Abush, H., Akirav, I. (2013). Cannabinoids ameliorate impairments induced by chronic stress to synaptic plasticity and short-term memory. Neuro psycho pharmacology, 38; 1521–1534.
11. Kano, M., Ohno- Shosaku, T., Hashimotodani, Y., Uchigashima, M., Watanabe, M. (2009). Endocannabinoid-mediated control of synaptic transmission. Physiol Rev, 89; 309-380.
12. Kim, J., Alger, BE. (2010). Reduction in endocannabinoid tone is a homeostatic mechanism for specific inhibitory synapses. Nat Neurosci, 13; 592-600.
13. Machawal, L., Kumar, A. (2014). Possible involvement of nitric oxide mechanism in the neuroprotective effect of rutin against immobilization stress induced anxiety like behaviour, oxidative damage in mice. Pharmachological Reports, 66; 15-21.
14. Lauckner, JE., Jensen, JB., Chen, HY., Lu, HC., Hille, B., Mackie, K. (2008). GPR55 is a cannabinoid receptor that increases intracellular calcium and inhibits M current. PNAS, 105; 2699-2704.
15. Liu, Q., Bhat, M., Bowen, WD., Cheng, J. (2009). Signaling pathways from Cannabinoid receptor-1 activation to inhibition of n-methyl-d-aspartic acid mediated calcium influx. and neurotoxicity in dorsal root ganglion neurons. J Pharmacol Expe Therape, 331; 1062-1070.
16. Lzquierdo, I., Da Cunha, C., Rosat, R. (1992). Processing by the amygdala, medial septum, receptors involved in post-training memory and hippocampus of the rat. Behav Neural Biol, 58; 16-26.
17. Domenicali, M., Ros, J., Fernández-Varo, G., Cejudo-Martín, P., Crespo, M., Morales-Ruiz, M. (2005). Increased anandamide induced relaxation in mesenteric arteries of cirrhotic rats: role of cannabinoid and vanilloid receptors. Gut; 54(4); 522–527.
18. Martin, M., Ledent, C., Parmentier, M., Maldonado, R., Valverde, O. (2002). Involvement of CB1 cannabinoid receptors in emotional behavior. Psychopharmacology (Berl), 159(4); 379-87.
19. Shabani, M., Haghani, M., Sheibani, V., Janahmadi, M. (2009). Changes in motor and learning behaviors of rats prenatally exposed to WIN 55212-2, a cannabinoid receptor agonist. Physiol Pharmacol, 13(2); 120-129.
20. Murillo-rodriguez, E. (2008). The role of the CB1 receptor in the regulation of sleep. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 32(6); 1420-7.
21. Nasehi, M., Piri, M., Jamali-Raeufy, N., Zarrindast, MR. (2010). Influence of intracerebral administration of NO agents in dorsal hippocampus (CA1) on cannabinoid statedependent memory in the step-down passive avoidance test. Physiol Behav, 100; 297-304.
22. Ahmadi, R., Sabori, F., Pishghadam, S. (2016). Effects of *Melissa officinalis* on ethanol state-dependent learning in nicotine- treated mice. MOJ Anat Physiol, 2(1); 1-6.
23. Ahmadi, R., Karimi, A. (2015). Effect of hydro-alcoholic extract of *Melissa officinal* is (Lemon balm) on morphine state dependent learning in mice. MOJ Anat Physiol, 3(3); 28-32.
24. Senik, MH., Mansor, SM., Tharakan, KJ., Bin Abdullah, JM. (2012). Effect of acute administration of *Mitragyna speciosa* learning and memory. J Medi Plants Res, 6; 1007-1014.
25. Solowiji, N., Battisti, R. (2008). The choronic effects of Cannabis memory in humans. Psychology, 1;81-98.
26. Stillman, M.J., Shukitt, H.B., Levy, A., Liebrman, H.R. (1998). Spatial memory under acute cold and restraint stress. Physiol. Behav, 64(5); 605-609.
27. Tamaki, H. (2013). BMC neuroscience working memory- and anxiety-related behavioral effects of repeated nicotine as a stressor: the role of cannabinoid re receptors. DOI: 10.1186/1471-2202-14-20.
28. Wan, RQ., Pang, K., Olton, DS. (1994). Hippocampal and amygdaloid involvement in nonspatial and spatial working memory in rats: effects of delay and interference. Behav Neurosci, 108; 866-882.
29. Zarrindast, MR., Askari, E., Khalilzadeh, A., Nouraei, N. (2006). Influence of acute and sub-chronic nicotine pretreatment on morphine state-dependent learning. Behav Brain Res,173(2); 268-73.