

# اثر مهار کننده تجزیه کانابینوئیدهای اندوژن در حضور وراپامیل بر پدیده‌های یادگیری و حافظه در موش بزرگ آزمایشگاهی

علیرضا کمکی<sup>۱\*</sup>، بهمن رسولی<sup>۲</sup>، سحر رسولی<sup>۲</sup>، سیامک شهیدی<sup>۱</sup>، عبدالرحمن صریحی<sup>۱</sup>

## خلاصه:

سابقه و هدف: اندوکابینوئیدها یکی از سیستم‌های آندوژن هستند که حافظه و یادگیری را تحت تاثیر قرار می‌دهند. در مورد تداخل کانال‌های کلسیمی نوع L و سیستم کانابینوئیدی در حافظه و یادگیری اختلاف نظر وجود دارد. در این مطالعه اثر تجویز حاد URB597 (مهارکننده تجزیه کانابینوئیدها) که به دنبال تجویز مزمن وراپامیل (مهارکننده کانال کلسیمی) صورت گرفته است را بر تست یادگیری احترازی غیرفعال (Passive Avoidance; PA) مورد بررسی قرار دادیم.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه رفتاری از ۷۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار استفاده شد که به ۷ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. حیوانات با دوز ۱۰، ۲۵، ۵۰ وراپامیل یا سالین به‌عنوان حلال وراپامیل به مدت ۱۳ روز تیمار شدند (روزانه یک وعده). قبل از انجام تست PA یک تزریق تک دوز از سالین، وراپامیل و یا URB597 (۰/۳ mg/kg) بسته به گروه حیوان مورد آزمایش صورت گرفت و سپس، تست PA انجام می‌شد. تست به‌خاطر آوری ۲۴ ساعت بعد از یادگیری صورت می‌گرفت.

نتایج: این مطالعه نشان داد که URB597 و وراپامیل اکتساب و به‌خاطر آوری را در تست PA تضعیف می‌نمایند. هم‌چنین، نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که URB597 تا حدودی اثرات مهاری وراپامیل بر اکتساب و به‌خاطر آوری را در تست PA تشدید می‌نماید. نتیجه‌گیری: می‌توان نتیجه گرفت که کانال‌های کلسیمی نوع L دارای یک نقش در اعمال مغزی از قبیل یادگیری و حافظه می‌باشند. هم‌چنین، یک تداخل عمل بین کانال‌های کلسیمی و سیستم کانابینوئیدی وجود دارد. به‌نظر می‌رسد که این اثرات مربوط به تغییر اندوکابینوئیدها در ساختمان‌های عصبی است که در فرآیندهای یادگیری و حافظه نقش دارند.

واژگان کلیدی: اندوکابینوئید، URB597، احترازی غیرفعال، یادگیری و حافظه، موش صحرایی، وراپامیل

دو ماه‌نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره هجدهم، شماره ۲، خرداد و تیر ۱۳۹۳، صفحات ۱۰۹-۱۰۱

## مقدمه

مطالعات مختلف نشان‌دهنده دخالت سیستم‌های مختلف نوروترانسمیتری [۲،۱] و کانال‌های کلسیمی [۴،۳] در حافظه و یادگیری هستند. مطالعات متعددی این فرضیه را تقویت کرده است که دامنه افزایش کلسیم پس سیناپسی عامل کلیدی در تعیین جهت شکل‌پذیری سیناپسی است؛ به این مفهوم که Long term depression (LTD) به افزایش متوسطی در کلسیم پس سیناپسی وابسته است، در حالی که Long term potentiation (LTP) به عنوان یکی از مهمترین مکانیسم‌های سلولی حافظه و یادگیری به افزایش بیشتری در کلسیم پس سیناپسی نیازمند است [۵-۷].

<sup>۱</sup> دانشیار، مرکز تحقیقات فیزیولوژی اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی همدان  
<sup>۲</sup> پزشک عمومی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی همدان

## \* نشانی نویسنده مسئول:

همدان، خیابان شهید فهمیده، دانشگاه علوم پزشکی همدان، مرکز تحقیقات فیزیولوژی اعصاب

دورنویس: ۰۸۱۱ ۸۳۸۰۲۰۸

تلفن: ۰۸۱۱ ۸۳۸۰۴۶۲

پست الکترونیک: alirezakomaki@gmail.com

تاریخ پذیرش نهایی: ۹۲/۱۲/۱۷

تاریخ دریافت: ۹۲/۶/۴

Morgan و Teyler نشان داده‌اند که تزریق داخل صفاقی وراپامیل در ناحیه CA1 هیپوکامپ در شرایط درون‌تنی باعث کاهش دامنه LTP می‌شود [۸]. هم‌چنین، محققین نشان داده‌اند که در شرایط درون‌تنی تزریق سیستمیک وراپامیل بر LTP مربوط به کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ تاثیر گذاشته و باعث افزایش خطا در حافظه کاری و رفرنس در ماز هشت پر شده است [۹]. علی‌رغم مطالعات زیادی که در مورد تاثیر سیستم کانابینوئیدی بر حافظه و یادگیری صورت گرفته است، نتایج متناقضی در این ارتباط وجود دارد [۱۰، ۱۱]. هم‌چنین، در مورد تاثیر کانابینوئیدها بر روی شکل‌پذیری سیناپسی و LTP نیز گزارشات ضد و نقیضی وجود دارد [۱۶-۱۱]. ماری جوانا و ترکیب اصلی آن-Delta-9-THC (tetrahydrocannabinol) از سال‌ها قبل به‌عنوان مختل‌کننده جنبه‌های مختلف حافظه شناخته شده است [۱۷، ۲]. وجود گیرنده‌های نوع ۱ کانابینوئیدی (CB1) و دو نوع کانابینوئید آندوژن یعنی آناندامید و ۲-آراشیدونیل گلیسرول (2-AG) و مشتقات متابولیک آنها در هیپوکامپ بیان‌گر ایفای نقش سیستم نوروشیمیایی کانابینوئیدی در فرآیندهای حافظه و یادگیری می‌باشد [۱۸]. به‌علاوه، تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که سیستم کانابینوئیدی مؤلفه‌های اصلی یادگیری و حافظه که شامل تثبیت و

همدان قرار گرفته و بر طبق دستورالعمل‌های اخلاقی انجمن بین المللی کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شده است.

روش یادگیری احترازی (غیر فعال) و دستگاه Shuttle Box: این دستگاه یک جعبه پلکسی گلاس است که از دو قسمت تاریک و روشن تشکیل شده است و ابعاد هر قسمت ۲۰×۲۰×۳۰ سانتی متر می‌باشد. دو بخش توسط یک دریچه گیوتینی ۸×۸ سانتی متر به هم مرتبط هستند. کف دو بخش میله‌های فلزی به فاصله ۱ سانتی متر از یکدیگر وجود دارد و شوک الکتریکی از طریق همین میله‌ها در بخش تاریک به پای حیوان اعمال می‌شود. این آزمایش در چهار مرحله انجام گرفت. مرحله اول (Habituation): در این مرحله موش‌های هر گروه یکی یکی با فاصله زمانی حدود ۸ دقیقه ابتدا درون Shuttle box احترازی غیر فعال قرار داده شده، بعد از ۵ ثانیه درب بین دو محفظه را برداشته و به مدت دو دقیقه به موش‌ها اجازه داده شد آزادانه در دو محفظه تاریک و روشن رفت و آمد کنند، که معمولاً در این مرحله موش صحرایی به‌طور طبیعی تمایل دارد بلافاصله وارد محفظه تاریک شود. در این فاصله زمانی اگر موشی تمایل به ورود به ناحیه تاریک نداشت و تمامی زمان را در ناحیه روشن سپری می‌کرد، از مطالعه حذف می‌گردید. مرحله دوم: ۳۰ دقیقه بعد موش صحرایی را در قسمت روشن جعبه گذاشته و ۲ دقیقه به حیوان مهلت داده می‌شد تا وارد محفظه تاریک شود، به محض ورود به محفظه تاریک درب آن را بسته و شوک یک میلی آمپر به مدت ۱/۵ ثانیه با فرکانس ۵۰ هرتز به حیوان داده می‌شد. سپس، موش صحرایی از محفظه تاریک خارج گشته و به قفس برگردانده می‌شد [۲۶، ۳-۲۴]. مرحله سوم: این مرحله دو دقیقه بعد از مرحله دوم انجام می‌گرفت. موش صحرایی در قسمت روشن دستگاه قرار داده شده و درب بین دو قسمت تاریک و روشن بالا کشیده می‌شد تا تست یادگیری (Acquisition) انجام شود؛ به این صورت که اگر در مدت ۲ دقیقه موش صحرایی وارد محفظه تاریک نمی‌شد به این مفهوم بود که یادگیری صورت گرفته، اما اگر وارد محفظه تاریک می‌شد، باید مرحله شوک را به همین صورت قبل تکرار می‌کردیم و با فاصله زمانی ۲ دقیقه‌ای این کار آندرت تکرار می‌شد تا موش صحرایی یاد بگیرد وارد محفظه تاریک نشود. مرحله چهارم (Retrieval): در این مرحله که ۲۴ ساعت بعد انجام می‌گرفت، موش را در محفظه روشن قرار داده و رفتار حافظه او را به مدت ۱۰ دقیقه بررسی می‌کردیم [۲۸، ۲۷، ۳].

گروه‌های آزمایشی عبارت بودند از: ۱- گروه شاهد: این گروه هم حجم ترکیبات تزریقی به گروه‌های دیگر، به مدت ۱۳ روز متوالی و به شکل تزریق مزمن داخل صفاقی سالیین دریافت می-

به‌خاطر آوری است را تحت تاثیر قرار می‌دهد [۲]. با توجه به نقش کانال‌های کلسیمی و گیرنده‌های کانابینوئیدی در حافظه و یادگیری، و از طرفی نامشخص بودن میانجی دخیل در تنظیم نقش کانال‌های کلسیم نوع L در ناحیه شکنج دندانه دار هیپوکامپ، ارتباط بین کانال‌های کلسیمی و گیرنده‌های کانابینوئیدی در حافظه و یادگیری مورد توجه واقع شده است. مطالعات اندکی در این ارتباط صورت گرفته است. بر اساس یکی از این مطالعات مشخص شده است که رسپتور CB1 کانابینوئیدی نقش مهمی را در شکل‌پذیری سیناپسی طولانی مدت هیپوکامپ ایفا می‌کند و بلوک‌کننده‌های کانال کلسیم نوع L باعث کاهش Down regulation گیرنده CB1 کانابینوئید می‌شود [۱۹]. علاوه بر این، بحث‌های متعددی در مورد نقش کانابینوئیدهای درون‌زا در میانجی‌گری رهایش سایر نوروترانسمیترها وجود دارد. اندوکانابینوئیدها احتمالاً دارای عملکرد فیزیولوژیک در تنظیم شکل‌پذیری سیناپسی نورون‌های گابائترژیک ناحیه شکنج دندانه‌دار (DG) هستند [۲۰] و افزایش غلظت کلسیم داخل سلولی سبب مهار انتقال گابائترژیک در نورون‌های پیرامیدال هیپوکامپ می‌شود [۲۱]؛ به‌طوری‌که پدیده مهار گابائترژیک وابسته به کلسیم در نورون‌های ناحیه شکنج دندانه‌دار هیپوکامپ هم مشاهده شده است [۲۲]. با توجه به این مطالب، هدف از انجام این تحقیق بررسی ارتباط بین نقش مهارکننده تجزیه کانابینوئیدهای آندوژن که باعث افزایش حضور کانابینوئیدها در فضای سیناپسی می‌شود، و نقش کانال‌های کلسیمی نوع L در یادگیری و حافظه می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه از روش یادگیری احترازی غیرفعال (Passive avoidance) به‌منظور بررسی یادگیری و حافظه استفاده شد. در تحقیق حاضر از ۷۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد Wistar با وزن ۲۴۰-۲۰۰ استفاده گردید که به ۷ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. موش‌ها در دسته‌های ۵ تایی تحت شرایط مناسب، درجه حرارت ۲۴-۲۰ درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی تاریکی ۱۲:۱۲ نگهداری شده و آب و غذا به مقدار کافی در دسترس‌شان بود. موش‌های صحرایی به مدت ۱۳ روز متوالی وراپامیل یا سالیین دریافت می‌کردند (وراپامیل با سه دوز mg/kg ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰ تزریق شد) [۲۳]. در این مطالعه در روز بعد از آخرین تزریق در حضور یا عدم حضور مهارکننده کانابینوئیدهای آندوژن تست یادگیری (Acquisition) انجام گرفته و متعاقباً در روز بعد تست به‌خاطر سپاری (Retrieval) انجام گرفت. لازم به ذکر است که آزمایشات مورد تایید شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی

اختلاف مشخص و معنی‌داری بین گروه‌ها وجود دارد. موش‌های گروه وراپامیل ۱۰ [ $F(3/36)=2/643, P<0/05$ ] و وراپامیل ۲۵ [ $F(3/36)=4/271, P<0/01$ ] و وراپامیل ۵۰ [ $F(3/36)=7/258, P<0/001$ ] در مقایسه با گروه سالی‌ن با تاخیر کمتری وارد قسمت تاریک شدند (شکل 1-B). در روز آزمون به‌خاطر آوری مقایسه زمان سپری شده در قسمت تاریک دستگاه نیز اختلاف معنی‌داری را بین چهار گروه نشان داد. موش‌های گروه وراپامیل ۱۰ [ $F(3/36)=3/795, P<0/05$ ]، وراپامیل ۲۵ [ $F(3/36)=6/258, P<0/001$ ] و وراپامیل ۵۰ [ $F(3/36)=4/583, P<0/01$ ] در مقایسه با گروه سالی‌ن زمان بیشتری را در قسمت تاریک گذرانیدند. تفاوت زمان سپری شده در قسمت تاریک دستگاه بین گروه‌های دریافت‌کننده وراپامیل ۱۰ و ۵۰ [ $F(3/36)=4/063, P<0/05$ ] و همچنین بین گروه‌های دریافت‌کننده وراپامیل ۲۵ و ۵۰ [ $F(3/36)=2/857, P<0/05$ ] معنی‌دار می‌باشد (شکل 1-C). مقایسه آماری تعداد دفعات دریافت شوک الکتریکی برای رسیدن به معیار یادگیری و عدم ورود به قسمت تاریک تفاوت معنی‌داری را بین گروه‌های مختلف دریافت‌کننده وراپامیل (دوز ۲۵mg/kg وراپامیل با تاثیر مناسب، کمترین تأثیر را بر مرگ و میر حیوان داشت و به همین علت در گروه‌های ترکیبی از این دوز وراپامیل استفاده گردید. ۵- گروه مهارکننده کانال‌های کلسیمی+مهارکننده کانال‌های کلسیمی: مهارکننده کانال‌های کلسیمی را به‌صورت حاد تک دوزی (۲۵ mg/kg) علاوه بر تزریق مزمن داخل صفاقی مهارکننده کانال کلسیم (۲۵ mg/kg) و نیم ساعت قبل از انجام آزمایش دریافت می‌کردند. ۴- گروه مهارکننده کانال کلسیمی+مهارکننده تجزیه کانا‌بینوئیدهای آندوزن به‌صورت حاد، علاوه بر مهارکننده کانال کلسیم (۲۵ mg/kg) که به‌صورت تزریق مزمن داخل صفاقی تجویز گردیده است، نیم ساعت قبل از انجام آزمایش تزریق می‌گردید. دوز (۲۵ mg/kg) وراپامیل با تاثیر مناسب، کمترین تأثیر را بر مرگ و میر حیوان داشت و به همین علت در گروه‌های ترکیبی از این دوز وراپامیل استفاده گردید. ۵- گروه مهارکننده کانال‌های کلسیمی+مهارکننده کانال‌های کلسیمی: مهارکننده کانال‌های کلسیمی را به‌صورت حاد تک دوزی (۲۵ mg/kg) علاوه بر تزریق مزمن داخل صفاقی مهارکننده کانال کلسیم (۲۵ mg/kg) و نیم ساعت قبل از انجام آزمایش دریافت می‌کردند.

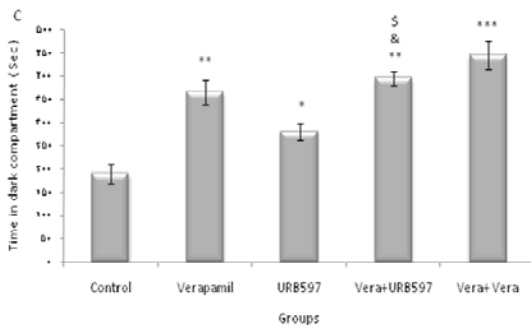
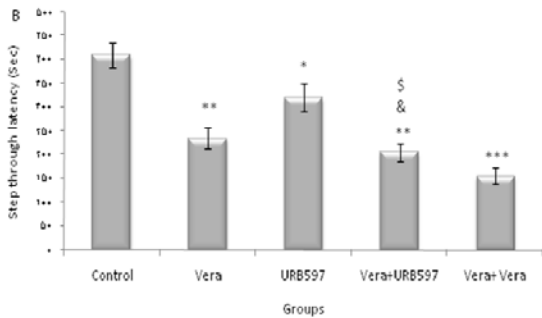
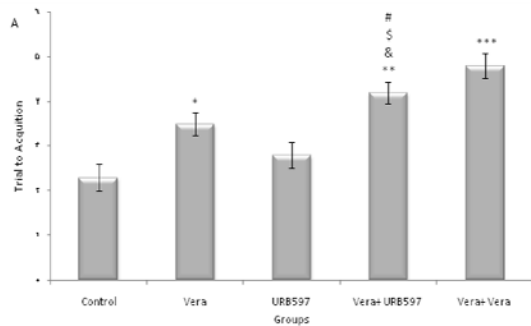
تجزیه و تحلیل آماری: برای بررسی وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها از آنجا که داده‌ها به‌صورت نرمال توزیع شده بود، از آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) یک‌طرفه و پس آزمون متناسب داده‌ها (Tukey) استفاده شد. داده‌ها به‌صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار میانگین برای هر گروه در نظر گرفته شد. در تمامی مراحل  $P<0/05$  به‌عنوان سطح معنی‌دار بودن در نظر گرفته شد.

## نتایج

مقایسه آماری تعداد دفعات دریافت شوک الکتریکی برای رسیدن به معیار یادگیری و عدم ورود به قسمت تاریک تفاوت معنی‌داری را بین گروه‌های مختلف دریافت‌کننده وراپامیل و گروه سالی‌ن نشان داد. موش‌های گروه وراپامیل ۲۵ [ $F(3/36)=3/874, P<0/05$ ] و وراپامیل ۵۰ [ $F(3/36)=4/371, P<0/01$ ] در مقایسه با گروه سالی‌ن دفعات بیشتری شوک الکتریکی برای رسیدن به یادگیری دریافت کردند (شکل شماره 1-A). مقایسه گروه‌ها در تاخیر ورود به بخش تاریک در آزمون به‌خاطر آوری نشان داد که

مقایسه آماری تعداد دفعات دریافت شوک الکتریکی برای رسیدن به معیار یادگیری و عدم ورود به قسمت تاریک تفاوت معنی‌داری را بین گروه‌های مختلف دریافت‌کننده وراپامیل و گروه سالی‌ن نشان داد. موش‌های گروه وراپامیل ۲۵ [ $F(3/36)=3/874, P<0/05$ ] و وراپامیل ۵۰ [ $F(3/36)=4/371, P<0/01$ ] در مقایسه با گروه سالی‌ن دفعات بیشتری شوک الکتریکی برای رسیدن به یادگیری دریافت کردند (شکل شماره 1-A). مقایسه گروه‌ها در تاخیر ورود به بخش تاریک در آزمون به‌خاطر آوری نشان داد که

مقایسه آماری تعداد دفعات دریافت شوک الکتریکی برای رسیدن به معیار یادگیری و عدم ورود به قسمت تاریک تفاوت معنی‌داری را بین گروه‌های مختلف دریافت‌کننده وراپامیل و گروه سالی‌ن نشان داد. موش‌های گروه وراپامیل ۲۵ [ $F(3/36)=3/874, P<0/05$ ] و وراپامیل ۵۰ [ $F(3/36)=4/371, P<0/01$ ] در مقایسه با گروه سالی‌ن دفعات بیشتری شوک الکتریکی برای رسیدن به یادگیری دریافت کردند (شکل شماره 1-A). مقایسه گروه‌ها در تاخیر ورود به بخش تاریک در آزمون به‌خاطر آوری نشان داد که



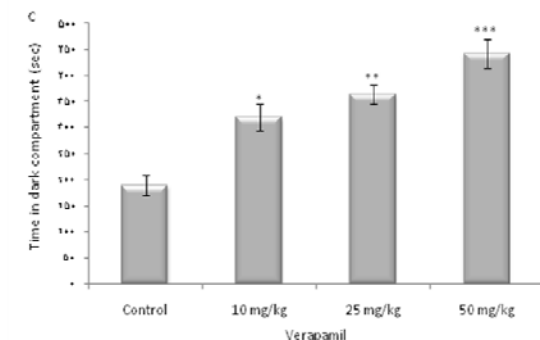
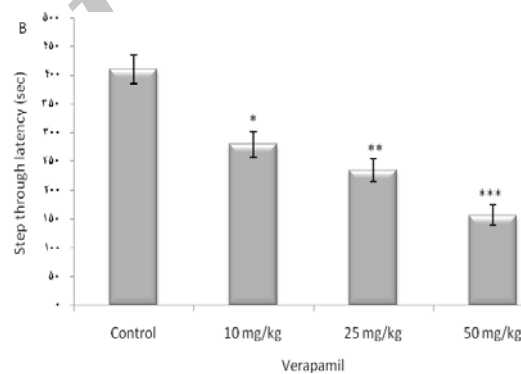
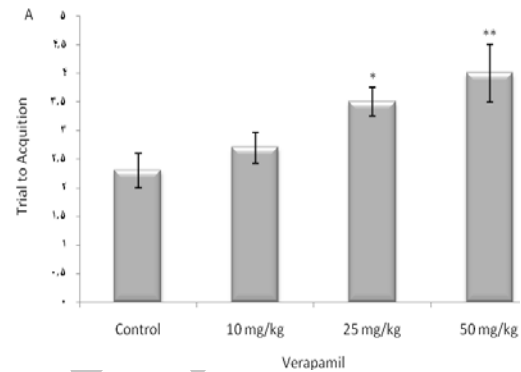
شکل شماره ۲- تأثیر وراپامیل، URB597، وراپامیل + URB597، وراپامیل + وراپامیل در مقایسه با سالین بر تعداد دفعات دریافت شوک الکتریکی برای رسیدن به معیار یادگیری و عدم ورود به قسمت تاریک دستگاه (A)، بر تأخیر ورود به بخش تاریک در آزمون به-خاطرآوری (B) و بر زمان سپری شده در قسمت تاریک دستگاه در آزمون به-خاطرآوری (C). داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار میانگین نشان داده شده است.

در مقایسه با گروه کنترل.  $P < 0.05$  = \* و  $P < 0.01$  = \*\* و  $P < 0.001$  = \*\*\* در مقایسه با گروه URB597.  $P < 0.05$  = \$ در مقایسه با گروه وراپامیل + وراپامیل.  $P < 0.05$  = # در مقایسه با گروه وراپامیل

### بحث

به‌طور خلاصه نتایج اصلی این مطالعه عبارت بودند از:  
 ۱- تجویز مزمن و حاد وراپامیل باعث کاهش میزان حافظه و یادگیری گردید. این کاهش در گروه مزمن + حاد برجسته‌تر بود.  
 ۲- تجویز URB597 (مهارکننده تجزیه کانابینوئیدهای اندوژن) نیز باعث کاهش حافظه و یادگیری می‌گردد. ۳- تجویز URB597 به‌دنبال تجویز مزمن وراپامیل نیز باعث کاهش حافظه و یادگیری

سالمین مدت زمان بیشتری را در قسمت تاریک سپری کردند. بین دو گروه وراپامیل و وراپامیل + URB597 تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. گروه وراپامیل + URB597 در مقایسه با گروه URB597 زمان بیشتری [ $F(4/45)=0.369, P < 0.01$ ] و در مقایسه با گروه وراپامیل + وراپامیل زمان کمتری [ $P < 0.05$ ] را در بخش تاریک سپری کرده است (شکل شماره 2-C).



شکل شماره ۱- تأثیر دوزهای مختلف وراپامیل بر تعداد دفعات دریافت شوک الکتریکی برای رسیدن به معیار یادگیری و عدم ورود به قسمت تاریک دستگاه (A)، بر تأخیر ورود به بخش تاریک در آزمون به‌خاطرآوری (B) و بر زمان سپری شده در قسمت تاریک دستگاه در آزمون به‌خاطرآوری (C). داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار میانگین نشان داده شده است.  $P < 0.05$  = \* و  $P < 0.01$  = \*\* و  $P < 0.001$  = \*\*\* در مقایسه با گروه کنترل

گردید. این کاهش بیشتر از کاهش مشاهده شده در گروه وراپامیل و URB597 به تنهایی ولی کمتر از کاهش گروه وراپامیل + وراپامیل بود.

این تحقیق نشان داد که تحریک بیش از حد گیرنده‌های CB1 با مهار تجزیه اندوکannabinoidها توسط URB597 باعث تضعیف فرآیند حافظه می‌گردد. مطالعات انجام شده قبلی به‌طور غیر مستقیم تأیید کننده یافته این تحقیق می‌باشد. گزارش شده است که آگونیست‌های CB1، LTP (اساس سلولی حافظه و یادگیری) را مختل می‌کنند [۱۶،۱۲،۱۱]. یک مکانیسم احتمالی آن است که گیرنده‌های پیش‌سیناپسی CB1 رهایی گلوتامات را مهار می‌کنند؛ در حالی که گلوتامات برای دپلاریزاسیون سلول‌های پس‌سیناپسی و رهایی گیرنده‌های N-Methyl-D-aspartate Acid (NMDA) از بلوک نمیزی می‌لازم است. باز شدن گیرنده‌های NMDA و هجوم کلسیم به‌داخل سلول پس‌سیناپسی، سیستم‌های پیامبر ثانویه وابسته به کلسیم را فعال کرده که در نهایت منجر به القای LTP می‌شود [۳۳،۳۲].

ماری‌جوانا و مشتقات آن به‌عنوان مختل کننده جنبه‌های مختلف حافظه شناخته شده است، در حالی که آنتاگونیست‌های cannabinoid باعث تقویت حافظه می‌گردند [۳۲]. مطالعات سال-های اخیر نشان داده است که این اختلال نتیجه تداخل با سیستم اندوکannabinoid می‌باشد. cannabinoidهای برون‌زا بیشتر تمایل دارند حافظه کوتاه مدت مثل حافظه کاری (Working memory) را مختل کنند و معمولاً اطلاعاتی را که خوب آموخته شده‌اند مثل حافظه بلند مدت یا مرجع را مختل نمی‌کنند. سیستم اندوکannabinoid نقش انتخابی برای اجزای مختلف حافظه و انواع آن دارد [۳۳]. در سطح مولکولی، اندوکannabinoidها در تنظیم الکتروفیزیولوژیکی مرتبط با یادگیری و شکل‌پذیری سیناپسی نقش مهمی دارند [۳۵،۳۴]. مطالعات نشان می‌دهند که رسپتور CB1 cannabinoid نقش مهمی را در شکل‌پذیری سیناپسی طولانی مدت هیپوکامپ ایفا می‌کند [۳۸-۳۴]. گزارش دیگری بیان‌گر این است که اندوکannabinoidها سبب تسهیل القا LTD وابسته به-Gamma (GABA) Amino Butyric Acid می‌شوند [۳۹]. گزارشات متعددی بیان‌گر ایفای نقش سیستم cannabinoid در آزادسازی GABA [۴۷-۴۰] و گلوتامات [۵۵-۴۸] و تأثیر آنها بر گیرنده-های‌شان می‌باشد.

بر اساس نتایج این تحقیق مشخص شد که URB597 میزان حافظه حیوان را تحت تأثیر قرار می‌دهد و احتمالاً این اثر از طریق تأثیر بر هیپوکامپ ظاهر می‌شود. در این راستا گزارش گردیده است که اندوکannabinoidها به‌صورت هتروژن در تمام

سیستم عصبی مرکزی (CNS) گسترده‌اند، ولی هیپوکامپ نقش عمده‌ای در میانجی‌گری اثرات cannabinoidهای آگروژن و اندوژن دارد. در هیپوکامپ تعداد زیادی رسپتورهای CB1 و همچنین Anandamide و 2-AG وجود دارد. همچنین آنزیم‌های مخصوص کاتابولیسم اینها در هیپوکامپ زیاد است [۵۶]. در هیپوکامپ، آزاد سازی اندوکannabinoidها از نورون‌های هرمی به‌طور انتخابی بر روی انتقال مهاري اثر کرده و ممکن است در ایجاد شکل‌پذیری سیناپسی در طی تشکیل حافظه و یادگیری نقش داشته باشد [۵۷]. سایر مناطق مغز مثل کورتکس فرونتال هم در مهارت-های توجهی (Attentional) و حافظه‌ای نقش دارند. مثلاً  $\Delta^9$ -THC همراه با اختلال در حافظه کاری باعث افزایش دوپامین و گلوتامات و کاهش آزادسازی گابا در کورتکس پره فرونتال می‌شود [۵۸] و همچنین  $\Delta^9$ -THC و WIN-55,212-2 (آگونیست گیرنده‌های cannabinoid) باعث افزایش آزادسازی استیل کولین در کورتکس فرونتال می‌شود [۵۹]. همچنین، این تحقیق نشان داد که وراپامیل اثر مهاري در فرآیند حافظه ایفا می‌کند. در تایید نتایج این تحقیق، مطالعات رفتاری و الکتروفیزیولوژی توسط لشگری و همکاران نیز [۲۵،۳] بیان‌گر آن است که تجویز مزمن وراپامیل باعث کاهش حافظه و القای LTP و همچنین باعث مهار رهایش نوروترانسمیتر مهاري گابا در مسیر پرفورنت به شکنج دندانه دار هیپوکامپ می‌شود. همچنین، اثر مرکزی وراپامیل و نیفدیپین در شکنج دندانه‌ای هیپوکامپ بر روی Retention حافظه مورد بررسی قرار داده شده و مشخص گردیده است که وراپامیل و نیفدیپین اثر کاهشی بر این فرآیند ایفا می‌کنند [۶۰].

تجویز URB597 به‌دنبال تجویز مزمن وراپامیل تا حدودی اثرات مهاري که توسط وراپامیل ایجاد شده بود را تشدید کرد. این یافته بیان‌گر وجود نوعی تداخل در عمل سیستم cannabinoid و کانال‌های کلسیمی می‌باشد. اندوکannabinoidها مانند ناقل‌های عصبی کلاسیک ذخیره نمی‌شوند، در عوض به سرعت توسط نورون‌ها و در پاسخ به دپولاریزاسیون و جریان کلسیم به داخل نورون ساخته می‌شوند [۵۷]. گزارش گردیده است که تحریک گیرنده‌های CB1 اعمالی را به‌دنبال دارد که شامل فعال کردن آدنیلات سیکلاز [۶۳-۶۱]، پیشرفت فعالیت میتوژنی پروتئین کیناز [۶۴]، و مهار کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ می‌باشد [۶۶-۶۴]. گیرنده‌های cannabinoid هم‌چنین بر فعالیت گاباژریک هیپوکامپ تأثیر دارند، ولی ماهیت آن به‌خوبی مشخص نشده است. تحریک گیرنده‌های CB1 ممکن است منجر به تأثیرات متفاوتی روی این سیستم شود و پاسخی که ایجاد می‌شود بستگی به این دارد که چه مسیری تحریک شده باشد [۷۰-۶۷]. مهار

فرآیندهای یادگیری و حافظه نقش دارند.

### تشکر و قدردانی

این مطالعه حاصل طرح تحقیقاتی مصوب توسط دانشگاه علوم پزشکی همدان می‌باشد. از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی همدان که حمایت مالی این پروژه را بر عهده داشتند قدردانی می‌گردد. نویسندگان این مقاله از پرسنل محترم مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی همدان که در انجام این تحقیق همکاری فراوانی نموده‌اند، کمال تشکر را دارند.

### References:

- [1] Lynch MA. Long-term potentiation and memory. *Physiol Rev* 2004; 84(1): 87-136.
- [2] Riedel G, Davies SN. Cannabinoid function in learning, memory and plasticity. *Handb Exp Pharmacol* 2005; (168): 445-77.
- [3] Lashgari R, Motamedi F, Zahedi Asl S, Shahidi S, Komaki A. Behavioral and Electrophysiological studies of chronic oral administration of L-type calcium channel blocker verapamil on learning and memory in rats. *Behav Brain Res* 2006; 171(2): 324-8.
- [4] Maurice T, Bayle J, Privat A. Learning impairment following acute administration of the calcium channel antagonist nimodipine in mice. *Behav Pharmacol* 1996; 6(2): 167-75.
- [5] Hansel C, Artola A, Singer W. Relation between dendritic  $Ca^{2+}$  levels and the polarity of synaptic long-term potentiation in rat visual cortex neurons. *Eur J Neurosci* 1997; 9(11): 2309-22.
- [6] Kirkwood A, Bear MF. Elementary forms of synaptic plasticity in the visual cortex. *Biol Res* 1995; 28(1): 73-80.
- [7] Borroni AM, Fichtenholtz H, Woodside BL, Teyler TJ. Role of voltage-dependent calcium channel long-term potentiation (LTP) and NMDA LTP in spatial memory. *J Neurosci* 2000; 20(24): 9272-6.
- [8] Morgan SL, Teyler TJ. VDCCs and NMDARs underlie two forms of LTP in CA1 hippocampus in vivo. *J Neurophysiol* 1999; 82(2): 736-40.
- [9] Arenos JD, Musty RE, Bucci DJ. Blockade of cannabinoid CB1 receptors alters contextual learning and Memory. *Eur J Pharmacol* 2006; 539(3): 177-83.
- [10] Puighermanal E, Marsicano G, Busquets-Garcia A, Lutz B, Maldonado R, Ozaita A. Cannabinoid modulation of hippocampal long-term memory is mediated by mTOR signaling. *Nat Neurosci* 2009; 12(9): 1152-8.
- [11] Terranova JP, Michaud JC, Le Fur G, Soubrie P. Inhibition of long-term potentiation in rat

گابائورژیک در نورون‌های ناحیه شکنج دندان‌های از طریق تنظیم Retrograde کانابینوئیدهای اندوژن صورت می‌گیرد و این فرآیند با آزادسازی کلسیم در اثر دیپلاریزاسیون از ذخایر کلسیمی حساس به رایانودین در ارتباط است [۲۰].

### نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج حاصل از تحقیق حاضر به نظر می‌رسد یک تداخل عمل بین سیستم کانابینوئیدی و کانال‌های کلسیمی در ایجاد حافظه و یادگیری وجود دارد. احتمالاً این اثرات مربوط به تغییر میزان اندوکانابینوئیدها در ساختمان‌های عصبی است که در

- hippocampal slices by anandamide and WIN55212-2: Reversal by SR141716A, a selective antagonist of CB1 cannabinoid receptors. *Nauyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1995; 352(5): 576-9.
- [12] Misner DL, Sullivan JM. Mechanism of cannabinoid effects on long-term potentiation and depression in hippocampal CA1 neurons. *J Neurosci* 1999; 19(16): 6795-805.
- [13] Lin QS, Yang Q, Liu DD, Sun Z, Dang H, Liang J, et al. Hippocampal endocannabinoids play an important role in induction of long-term potentiation and regulation of contextual fear memory formation. *Brain Res Bull* 2011; 86(3-4): 139-45.
- [14] Carlson G, Wang Y, Alger BE. Endocannabinoids facilitate the induction of LTP in the hippocampus. *Nat Neurosci* 2002; 5(8): 723-4.
- [15] de Oliveira Alvares L, Genro BP, Vaz Breda R, Pedroso MF, Da Costa JC, Quillfeldt JA. AM251, a selective antagonist of the CB1 receptor, inhibits the induction of long-term potentiation and induces retrograde amnesia in rats. *Brain Res* 2006; 1075(1): 60-7.
- [16] Collins DR, Pertwee RG, Davies SN. The action of synthetic cannabinoids on the induction of long-term potentiation in the rat hippocampal slice. *Eur J Pharmacol* 1994; 259(3): R7-8.
- [17] Mendizábal VE, Adler-Graschinsky E. Cannabinoid system as a potential target for drug development in the treatment of cardiovascular disease. *Curr Vasc Pharmacol* 2003; 1(3): 301-13.
- [18] Herkenham M, Lynn AB, Johnson MR, Melvin LS, De Costa BR, Rice KC. Characterization and localization of cannabinoid receptors in the brain: a quantitative in vitro autoradiographic study. *J Neurosci* 1991; 11(2): 563-83.
- [19] Vallano ML, Beaman-Hall CM, Bui CJ, Middleton FA. Depolarization and  $Ca^{2+}$  down regulate CB1 receptors and CB1-mediated signaling in cerebellar granule neurons. *Neuropharmacology* 2006; 50(6): 651-60.

- [20] Isokawa M, Alger BE. Retrograde endocannabinoid regulation of GABAergic inhibition in the rat dentate gyrus granule cell. *J Physiol* 2005; 567(Pt 3): 1001-10.
- [21] Alger BE. Gating of GABAergic inhibition in hippocampal pyramidal cells. *Ann N Y Acad Sci* 1991; 627: 249-63.
- [22] Isokawa M. Modulation of GABAA receptor-mediated inhibition by postsynaptic calcium in epileptic hippocampal neurons. *Brain Res* 1998; 810(1-2): 241-50.
- [23] Lashgari R, Motamedi F, Noorbakhsh SM, Zahedi-Asl S, Komaki A, Shahidi S, et al. Assessing the long-term role of L-type voltage dependent calcium channel blocker verapamil on short-term presynaptic plasticity at dentate gyrus of hippocampus. *Neurosci Lett* 2007; 415(2): 174-8.
- [24] Motamedi F, Ghasemi M, Davoodi FG, Naghdi N. Comparison of Learning and Memory in Morphine Dependent Rats using Different Behavioral Models. *Iran J Pharmaceutical Res* 2003; 4: 225-30.
- [25] Narayanan SN, Kumar RS, Potu BK, Nayak S, Bhat PG, Mailankot M. Effect of radio-frequency electromagnetic radiations (RF-EMR) on passive avoidance behaviour and hippocampal morphology in Wistar rats. *Ups J Med Sci* 2010; 115(2): 91-6.
- [26] Senik MH, Mansor SM, Tharakan KJ, Bin Abdullah JM. Effect of acute administration of *Mitragyna speciosa* Korth. standardized methanol extract in animal model of learning and memory. *J Med Plants Res* 2012; 6(6): 1007-14.
- [27] Mazzola C, Medalie J, Scherma M, Panlilio LV, Solinas M, Tanda G, et al. Fatty acid amide hydrolase (FAAH) inhibition enhances memory acquisition through activation of PPAR- $\alpha$  nuclear receptors. *Learn Mem* 2009; 16(5): 332-7.
- [28] Rasouli B, Rasouli S, Komaki A. Study the Effects of Endogenous Cannabinoid Breakdown Inhibitor on Learning and Memory in Rat. *Cell J (Yakhteh)* 2011; 12 Suppl 1: 33-4.
- [29] Scherma M, Panlilio LV, Fadda P, Fattore L, Gamaledin I, Le Foll B, et al. Inhibition of anandamide hydrolysis by URB597 reverses abuse-related behavioral and neurochemical effects of nicotine in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2008; 327(2): 482-90.
- [30] Ketchesin KD. The effects of the fatty acid amide hydrolase (FAAH) inhibitor URB597 on extinction of a conditioned taste aversion. *JRCS* 2011; 3(2): 24-35
- [31] Scherma M, Julie Medalie J, Fratta W, Vadivel SK, Makriyannis A, Piomelli D, et al. The endogenous cannabinoid anandamide has effects on motivation and anxiety that are revealed by fatty acid amide hydrolase (FAAH) inhibition. *Neuropharmacology* 2008; 54(1): 129-40.
- [32] Sullivan JM. Cellular and molecular mechanisms underlying learning and memory impairments produced by cannabinoids. *Learn Memory* 2000; 7(3): 132-9.
- [33] Varvel SA, Lichtman AH. Role of the endocannabinoid system in learning and Memory. In: Mechoulam R, Editor. *Cannabinoids as Therapeutics*. Birkhäuser Verlag/Switzerland; 2005. p. 111-40.
- [34] Davies SN, Pertwee RG, Riedel G. Function of cannabinoid receptor in the hippocampus. *Neuropharmacology* 2002; 42(8): 993-1007.
- [35] Kano M, Ohno- Shosaku T, Hashimoto-dani Y, Uchigashima M, Watanabe M. Endocannabinoid-Mediated Control of Synaptic Transmission. *Physiol Rev* 2009; 89(1): 309-80.
- [36] Freund TF, Katona I, Piomelli D. Role of endogenous cannabinoids in synaptic signaling. *Physiol Rev* 2003; 83(3): 1017-66.
- [37] Lovinger DM. Presynaptic modulation by endocannabinoids. *Handb Exp Pharmacol* 2008; (184): 435-77.
- [38] Lynch MA. Long-term potentiation and memory. *Physiol Rev* 2004; 84(1): 87-136.
- [39] Chevaleyre V, Castillo PE. Heterosynaptic LTD of hippocampal GABAergic synapses: a novel role of endocannabinoids in regulating excitability. *Neuron* 2003; 38(3): 461-72.
- [40] Higuera-Matas A, Miguéns M, Coria SM, Assis MA, Borcel E, del Olmo N, et al. Sex-specific disturbances of the glutamate/GABA balance in the hippocampus of adult rats subjected to adolescent cannabinoid exposure. *Neuropharmacology* 2012; 62(5-6): 1975-84.
- [41] Baur R, Gertsch J, Sigel E. The cannabinoid CB1 receptor antagonists rimonabant (SR141716) and AM251 directly potentiate GABA (A) receptors. *Br J Pharmacol* 2012; 165(8): 2479-84.
- [42] Földy C, Neu A, Jones MV, Soltesz I. Presynaptic, activity-dependent modulation of cannabinoid type 1 receptor-mediated inhibition of GABA release. *J Neurosci* 2006; 26(5): 1465-9.
- [43] Hofmann ME, Bhatia C, Frazier CJ. Cannabinoid receptor agonists potentiate action potential-independent release of GABA in the dentate gyrus through a CB1 receptor-independent mechanism. *J Physiol* 2011; 589 (Pt 15): 3801-21.
- [44] Cinar R, Freund TF, Katona I, Mackie K, Szucs M. Reciprocal inhibition of G-protein signaling is induced by CB(1) cannabinoid and GABA(B) receptor interactions in rat hippocampal membranes. *Neurochem Int* 2008; 52(8): 1402-9.
- [45] Gonzalez B, Paz F, Florán L, Aceves J, Erlj D, Florán B. Cannabinoid agonists stimulate [3H] GABA release in the globus pallidus of the rat when G(i) protein-receptor coupling is restricted: role of dopamine D2 receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 2009; 328(3): 822-8.
- [46] Deshpande LS, Blair RE, DeLorenzo RJ. Prolonged cannabinoid exposure alters GABA (A) receptor mediated synaptic function in cultured

- hippocampal neurons. *Exp Neurol* 2011; 229(2): 264-73.
- [47] Verdurand M, Dalton VS, Zavitsanou K. GABA (A) receptor density is altered by cannabinoid treatment in the hippocampus of adult but not adolescent rats. *Brain Res* 2010; 1351: 238-45.
- [48] Musella A, Sepman H, Mandolesi G, Gentile A, Fresegna D, Haji N, et al. Pre- and postsynaptic type-1 cannabinoid receptors control the alterations of glutamate transmission in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Neuropharmacology* 2014; 79: 567-72.
- [49] Vicente-Sánchez A, Sánchez-Blázquez P, Rodríguez-Muñoz M, Garzón J. HINT1 protein cooperates with cannabinoid 1 receptor to negatively regulate glutamate NMDA receptor activity. *Mol Brain* 2013; 6:42
- [50] Sánchez-Blázquez P, Rodríguez-Muñoz M, Vicente-Sánchez A, Garzón J. Cannabinoid receptors couple to NMDA receptors to reduce the production of NO and the mobilization of zinc induced by glutamate. *Antioxid Redox Signal* 2013; 19(15): 1766-82
- [51] Ferreira SG, Teixeira FM, Garção P, Agostinho P, Ledent C, Cortes L, et al. Presynaptic CB1 (1) cannabinoid receptors control frontocortical serotonin and glutamate release--species differences. *Neurochem Int* 2012; 61(2): 219-26.
- [52] Polissidis A, Galanopoulos A, Naxakis G, Papahatjis D, Papadopoulou-Daifoti Z, Antoniou K. The cannabinoid CB1 receptor biphasically modulates motor activity and regulates dopamine and glutamate release region dependently. *Int J Neuropsychopharmacol* 2013; 16(2): 393-403.
- [53] Scandroglio P, Brusa R, Lozza G, Mancini I, Petrò R, Reggiani A, et al. Evaluation of cannabinoid receptor 2 and metabotropic glutamate receptor 1 functional responses using a cell impedance-based technology. *J Biomol Screen* 2010; 15(10): 1238-47.
- [54] Hoffman AF, Laaris N, Kawamura M, Masino SA, Lupica CR. Control of cannabinoid CB1 receptor function on glutamate axon terminals by endogenous adenosine acting at A1 receptors. *J Neurosci* 2010; 30(2): 545-55.
- [55] Ferraro L, Tomasini MC, Beggiano S, Gaetani S, Cassano T, Cuomo V, et al. Short- and long-term consequences of prenatal exposure to the cannabinoid agonist WIN55,212-2 on rat glutamate transmission and cognitive functions. *J Neural Transm* 2009; 116(8): 1017-27.
- [56] Herkenham M, Lynn AB, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR, Rice KC. Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: A quantitative in vitro autoradiographic study. *J Neurosci* 1991; 11(2): 563-83.
- [57] Luscher C. Drugs of abuse. In: Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. Editor. Basic and Clinical Pharmacology. 12th ed. McGraw Hill (Lange); 2012. p. 565-580.
- [58] Pistis M, Ferraro L, Pira L, Flore G, Tanganelli S, Gessa GL, et al. Delta (9)-tetrahydrocannabinol decreases extracellular GABA and increases extracellular glutamate and dopamine levels in the rat prefrontal cortex: an in vivo microdialysis study. *Brain Res* 2002; 948(1-2): 155-8.
- [59] Verrico CD, Jentsch JD, Dazzi L, Roth RH. Systemic, but not local, administration of cannabinoid CB1 receptor agonists modulate prefrontal cortical acetylcholine efflux in the rat. *Synapse* 2003; 48(4): 178-83.
- [60] Lee EH, Lin WR. Nifedipine and verapamil block the memory-facilitating effect of corticotropin-releasing factor in rats. *Life Sci* 1991; 48(13): 1333-40.
- [61] Bidaut-Russell M, Devane WA, Howlett AC. Cannabinoid receptors and modulation of cyclic AMP accumulation in the rat brain. *J Neurochem* 1990; 55(1): 21-6.
- [62] Howlett AC, Qualy JM, Khachatrian LL. Involvement of Gi in the inhibition of adenylate cyclase by cannabimimetic drugs. *Mol Pharmacol* 1986; 29(3): 307-13.
- [63] Pacheco M, Childers SR, Arnold R, Casiano F, Ward SJ. Aminoalkylindoles: Actions on specific G-protein-linked receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 1991; 257(1): 170-83.
- [64] Caulfield MP, Brown DA. Cannabinoid receptor agonists inhibit Ca current in NG108-15 neuroblastoma cells via a pertussis toxin-sensitive mechanism. *Br J Pharmacol* 1992; 106(2): 231-2.
- [65] Mackie K, Hille B. Cannabinoids inhibit N-type calcium channels in neuroblastoma-glioma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89(9): 3825-3829.
- [66] Mackie K, Lai Y, Westenbroek R, Mitchell R. Cannabinoids activate an inwardly rectifying potassium conductance and inhibit Q-type calcium currents in AtT20 cells transfected with rat brain cannabinoid receptor. *J Neurosci* 1995; 15(10): 6552-61.
- [67] Katona I, Sperlagh B, Sik A, Kafalvi A, Vizi ES, Mackie K, et al. Presynaptically located CB1 cannabinoid receptors regulate GABA release from axon terminals of specific hippocampal interneurons. *J Neurosci* 1999; 19(11): 4544-58.
- [68] Marsicano G, Lutz B. Expression of the cannabinoid receptor CB1 in distinct neuronal subpopulations in the adult mouse forebrain. *Eur J Neurosci* 1999; 11(12): 4213-25.
- [69] Tsou K, Mackie K, Sanudo-Pena MC, Walker JM. Cannabinoid CB1 receptors are localized primarily on cholecystokinin-containing GABAergic interneurons in the rat hippocampal formation. *Neuroscience* 1999; 93(3): 969-75.
- [70] Katona I, Sperlagh B, Magloczky Z, Santha E, Kofalvi A, Czirjak S, et al. GABAergic interneurons are the targets of cannabinoid actions in the human hippocampus. *Neuroscience* 2000; 100(4): 797-804.