پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره نوزدهم شماره ۷۱ مرداد و شهریور سال ۱۳۸۸ (۹-۱)

# تاثیر مهار کننده نیتریک اکساید سنتاز در ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی بر یادگیری وابسته به وضعیت کانابینوئیدها در مدل یادگیری اجتنابی مهاری

محمد ناصحی[۱] مرتضی پیری[۲] محمد رضا زرین دست[۳]

## چکیده

**سابقه و هدف :** در این پژوهش اثر L-NAME (مهارکننده نیتریک اکساید سنتاز) به عنوان آنتاگونیست نیتریک اکساید، بر یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با WIN55, 212-2 در موش‌های کوچک آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفته است.

**مواد و روش ها :** به دنبال بیهوشی موش‌ها از طریق تزریق درون صفاقی کتامین و زایلزین، حیوان‌ها توسط دستگاه استریوتاکسی جراحی شدند و ناحیه CA1 کانول‌گذاری شد. روش اجتنابی مهاری(غیرفعال) با مدل Step-down برای بررسی حافظه در موش‌های کوچک آزمایشگاهی بکار گرفته شد و حافظه حیوان ۲۴ ساعت بعد از آموزش مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته ها :** تزریق درون مغزی WIN55,212-2 (۰/۵،۱ µg/mouse) در روزآموزش به تخریب حافظه حیوانات منجرشد. حافظه تخریب شده باتزریق WIN55,212-2 (۱ µg/mouse) در روزآموزش با بکاربردن همان مقدار از WIN55, 212-2 (۱ µg/mouse) در روز آزمون به حالت عادی برگشت. تزریق قبل از آزمون، L-NAME (۰/۳ ، ۱، ۳ µg/mouse) به تنهایی و همچنین در حیواناتی که حافظه آنها با تزریق WIN55,212-2 (۱ µg/mouse) در روز آموزش تخریب شده بود، تاثیری روی حافظه اجتنابی مهاری ندارد. بعلاوه در حیواناتی که WIN55,212-2 (۱ µg/mouse) را هم بعد از آموزش و هم قبل از آزمون دریافت کرده بودند، تزریق L-NAME (۳ µg/mouse) دو دقیقه قبل از WIN55,212-2 در روز آزمون، حافظه اجتنابی مهاری را تخریب می‌نماید.

**استنتاج :** نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که WIN55,212-2 قادر به ایجاد یادگیری وابسته به وضعیت می‌باشد و تزریق قبل از آزمون L-NAME می‌تواند یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با WIN55, 212-2 را مهار نماید.

**واژه‌های کلیدی:** WIN55, 212-2 ، L-NAME ، یادگیری وابسته به وضعیت، موش کوچک آزمایشگاهی

## مقدمه

کانابینوئیدها جزء داروهای مقلد حالات روانی می‌باشند که از گیاه شاهدانه استخراج می‌شوند. اثرات کانابینوئیدها از بسیاری جهات مشابه اپیوئیدها است. کانابینوئیدها به مانند اپیوئیدها دارای اثرات ضد دردی و

**مولف مسئول: محمد ناصحی-** گرمسار: گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار E-mail: mo58na@yahoo.com

۱. گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار

۲. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل

۳. گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی و مرکز ملی مطالعات اعتیاد، دانشگاه علوم پزشکی تهران

تاریخ دریافت : ۸۷/۱۲/۱۰ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۸۸/۲/۲۷ تاریخ تصویب : ۸۸/۴/۱۷



www.SID.ir

ضدالتهابی می‌باشند و موجب سرکوب سیستم ایمنی بدن و القاء فراموشی می‌شوند(۱). کشف لیگاندهای آندوژن کانابینوئیدها مانند آناندامید و دی آراشیدونیل گلیسرول که از طریق گیرنده‌های کانابینوئیدی عمل می‌نمایند، باعث شد که اثرات درمانی کانابینوئیدها بیشتر مورد توجه قرار گیرد(۲). کانابینوئیدها از طریق دو نوع گیرنده اصلی که CB1 و CB2 نامیده می‌شود اثرات خود را القاء می‌نمایند. گیرنده‌های CB1 به مقدار زیاد در بخش‌های مختلف سیستم عصبی مرکزی مانند قشر مغز، عقده‌های قاعده‌ای، آمیگدال و ساختارهای هیپوکامپ که نقش اساسی در حافظه و یادگیری دارند بیان می‌شوند، اما به مقدار کم در بافت‌های محیطی نیز یافت می‌شود. در حالیکه گیرنده‌های CB2 بیشتر در سلول‌های ایمنی محیطی بیان می‌شوند و مقدار آن در سیستم عصبی مرکزی بسیار کم است(۳). مطالعات مختلف نشان داده شده است که کانابینوئیدها و اپیوئیدها هر دو با سیستم‌های نورترانسمیتری مختلف نظیر دوپامین، سروتونین، گابا و نیتریک اکساید(۴) برهمکنش نشان می‌دهند و از این طریق موجب تغییرات پایدار و درازمدت در الگوهای رفتاری مختلف می‌شوند.

مطالعات نشان می‌دهد که نیتریک اکساید به عنوان یک پیک ثانویه در سیستم عصبی مرکزی و محیطی در تقویت دراز مدت سیناپسی و القاء اثرات کانابینوئیدها نقش مهمی بر عهده دارد(۵)، گزارش شده است که WIN55,212-2 (آگونیست هر دوگیرنده CB1 و CB2) بیان نیتریک اکسایدسنتاز را تعدیل می‌نماید(۶). آنزیم نیتریک اکساید سنتاز، تولید نیتریک اکساید را کاتالیز می‌نماید وتقویت درازمدت سیناپسی را تسهیل می‌نماید(۷).

هیپوکامپ نقش‌اساسی درحافظه و یادگیری دارد(۸). مطالعات نشان می‌دهند که نیتریک اکساید و کانابینوئیدها به واسطه اثر روی هیپوکامپ می‌توانند حافظه و یادگیری را تحت تاثیر قرار دهند(۹). بنابراین در این مطالعه تاثیر L-NAME در ناحیه CA1 بر یادگیری وابسته به وضعیت کانابینوئیدها در مدل یادگیری اجتنابی مهاری با استفاده از مدل step-down مورد مطالعه قرار گرفته است.

## مواد و روش ها

*حیوان‌ها :*

در آزمایش‌ها از موش کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMRI (وزن تقریبی ۳۰-۲۲ گرم) که از انستیتوپاستور ایران تهیه می‌شد، استفاده گردید. حیوان‌ها به حیوانخانه تحقیقاتی منتقل شده، درطول آزمای آب و غذای کافی در اختیار موش‌ها قرار می‌گرفت. دمای حیوانخانه بین ۳ ± ۲۲ درجه سانتیگراد متغیر بود. قبل ازجراحی به مدت یک هفته به موش‌ها اجازه داده شد که خود را با شرایط حیوانخانه تطبیق دهند. موش‌ها درگروه‌های ده‌تایی قرار گرفتند. تمامی آزمایشات در طول روز انجام می‌شد.

*دستگاه یادگیری اجتنابی مهاری (غیر فعال):*

دستگاه یادگیری اجتنابی مهاری (غیر فعال) (Inhibitory (passive) avoidanse apparatus)، مدل Step-down، جعبهٔ چوبی به ابعاد ۴۰cm×۳۰× ۳۰ می‌باشد. در کف دستگاه ۲۹ میلهٔ فولادی با قطر ۰/۳ سانتی‌متر و به فاصله ۱ سانتی‌متر از یکدیگر قرار دارد. یک سکوی مکعبی چوبی به ابعاد ۴ cm ×۴×۴ در قسمت میانی کف دستگاه (روی میله‌های فلزی) قرار گرفت، این میله‌ها به دستگاه تحریک‌کننده متصل شده و شوک الکتریکی از طریق این میله‌ها به حیوانات مورد آزمایش وارد می‌شد. آزمایش‌ها در اتاق نسبتاً تاریک و بدون سر و صدا انجام می‌شد.

*داروها:*

دراین تحقیق داروهای WIN55, 212-2 (تاکریس، آمریکا) و L-NAME (سیگما، آمریکا) مورد استفاده قرار گرفت. WIN55, 212-2 در محلول حاملی حل شدند که ۹۰ درصد آن سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد و ۱۰ درصد باقیمانده دی متیل سولفوکسید(DMSO) بود. سرانجام به محلول فوق یک قطره روغن توئین ۸۰ اضافه



Archive of SID
www.SID.ir

می‌شد و L-NAME بلافاصله قبل از آزمایش‌ها در سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد حل می‌شد.

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

موش‌های کوچک آزمایشگاهی توسط تزریق کتامین هیدروکلرید(ketamine hydrochloride) (۱۰۰mg/kg) بعلاوه گزیلزین (xylazine) (۱۰ mg/kg) بی‌هوش می‌شدند. بعد از بی‌هوشی حیوانات در دستگاه استریوتاکسی قرار داده می‌شدند. دوکانول راهنما (G ۲۲) به صورت دو طرفه یک میلی‌متر بالاتر از محل تزریق، براساس اطلس پاکسینوس(Paxinos) قرار داده می‌شد(۱۰).

آزمون های رفتاری

روش اجتنابی مهاری برای بررسی حافظه در موش‌های کوچک آزمایشگاهی در دو روز متوالی انجام می‌شد. در روز اول یا روز آموزش(training day) حیوان‌ها در دستگاه آموزش داده می‌شدند. در روز دوم یا روز آزمون (testing day) میزان حافظه حیوان‌های آموزش دیده بررسی می‌شد.

*مرحله آموزش*

در روش اجتنابی مهاری مدل Step-down، هر حیوان به آرامی روی سکوی مکعبی دستگاه ارزیابی حافظه قرار می‌گیرد و مدت زمان توقف روی سکو (قبل از پایین آمدن) ثبت می‌شد. در صورتی که هر موش بیش از ۲۰ ثانیه روی سکو بماند، آن موش حذف می‌شد. بلافاصله بعد از پایین آمدن موش از مکعب چوبی و قرار گرفتن چهار پای موثر روی میله‌های فولادی به مدت ۱۵ثانیه شوک الکتریکی (۱هرتز، ۰/۵ ثانیه و ۴۵ میلی‌ولت مستقیم) دریافت می‌شد. شوک توسط یک محرک (Grass S44, west warnick, RI, USA) به میله‌های فولادی انتقال داده می‌شد(۱۱). مراحل آموزش در بین ساعت ۸ صبح الی ۲ بعد ازظهر انجام گرفت.

*مرحله آزمون یا بررسی حافظه*

جلسهٔ آزمون ۲۴ساعت بعد از آموزش با پروسه‌های مشابه آموزش انجام می‌شد به جز اینکه شوکی در این روز دریافت نمی‌شد. مدت زمان توقف موش روی سکو به عنوان معیار حافظه در موش اندازه‌گیری می‌شد که حداکثر زمان برای توقف موش روی سکو برابر با ۳۰۰ ثانیه بود.

*اندازه گیری locomotion*

به منظور اندازه‌گیری فعالیت حرکتی حیوانات از open-field استفاده شد. دستگاه open-field مورد استفاده در این تحقیق چوبی و به ابعاد ۳۰ × ۴۰ × ۴۰ سانتیمتر بود که به‌کمک علامت+ که درکف دستگاه وجود داشت، کف دستگاه به چهار قسمت برابر تقسیم شده بود. تعداد دفعاتی که حیوان در مدت پنج دقیقه از روی این خطوط عبور می‌کرد، نمادی از فعالیت حرکتی حیوان بود.

*تزریق درون مغزی دارو*

برای تزریق دارو پس از برداشتن سیم داخل کانول راهنما، سر سوزن G ۲۷ دندانپزشکی که ۹ میلی‌متر طول داشت و به کت دان تیوب (cat down tube) نوزاد (شماره۴) متصل بود، در داخل کانول راهنما G ۲۲ قرار داده شده، در هر کانول ۰/۵ میکرولیتر دارو در مدت ۹۰-۶۰ ثانیه تزریق می‌شد.

*بافت شناسی*

پس از کشتن حیوان‌ها با کلروفرم و با تزریق رنگ متیلن بلو ۱ درصد(۰/۵ µl) به داخل هر کانول، مغز از درون جمجمه بیرون آورده شد و درون فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت. پس از یک هفته با استفاده از تیغ جراحی در محل ورود کانول به درون مغز برش‌هایی داده شد، محل ورود کانول به مغز به وسیله میکروسکوپ لوپ مورد مطالعه قرار می‌گرفت.

Archive of SID


www.SID.ir

*تیمارهای دارویی و آزمایش های انجام شده*

*۱- آزمایش اول: بررسی تاثیر تزریق پس از آموزش WIN55, 212-2 روی حافظه اجتنابی مهاری.*

گروه اول و دوم بلافاصله پس از آموزش، سالین و حامل را به صورت درون مغزی (intra-CA1) دریافت کردند. سه گروه دیگر مقادیر مختلف WIN55, 212-2 (۱ µg/mouse ، ۰/۵، ۰/۲۵) را بلافاصله پس از آموزش به صورت درون مغزی (intra-CA1) دریافت‌کردند، در روز آزمون گروه‌ها قبل از آزمون سالین(۱µl/mouse) یا حامل(۱µl/mouse) را ۵ دقیقه قبل از آزمون دریافت داشتند. سه گروه دیگر بلافاصله بعد از آموزش WIN55,212-2 (۱ µg/mouse) را دریافت کردند و در روز آزمون مقادیرمختلف WIN55,212-2 (۱ µg/mouse، ۰/۵ ، ۰/۲۵) را ۵ دقیقه قبل از آزمون به صورت درون مغزی(intra-CA1) دریافت کردند.

*۲- آزمایش دوم : بررسی تاثیر تزریق درون مغزی L-NAME بر حافظه اجتنابی تخریب شده ناشی از WIN55, 212-2.*

چهار گروه اول سالین را بلافاصله بعد از آموزش دریافت داشتند و در روز آزمون سالین با مقادیر مختلف L-NAME (۳ ،۳،۱/۰ µg/mouse) را پنج دقیقه قبل از آزمون دریافت داشت. چهار گروه باقی مانده بلافاصله بعد از آموزش WIN55,212-2 (۱ µg/mouse) را دریافت کردند و در روز آزمون سالین با مقادیرمختلف L-NAME (۳ µg/mouse ، ۱ ، ۰/۳) را پنج دقیقه قبل از آزمون به صورت درون مغزی (intra-CA1) دریافت کردند.

*۳- آزمایش سوم : بررسی تاثیر تزریق درون مغزی L-NAME بر یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده توسط WIN55, 212-2 .*

تمامی گروه‌ها در روز آموزش بلافاصله بعد از آموزش WIN55,212-2 (۱ µg/mouse) را به صورت درون مغزی دریافت کردند و در روز آزمون مقادیر مختلف L-NAME (۳ µg/mouse ، ۱ ، ۰/۳) بعلاوه WIN55,212-2 (۱ µg/mouse) را دریافت کردند.

*تجزیه و تحلیل آماری*

در همه آزمایش‌ها، زمان توقف حیوان روی سکو به‌صورت میانه(Median) و چارک ثبت شد. به علت تفاوت‌های خاص و زیادی که در پاسخ‌های یادگیری حیوانات و همچنین ظرفیت یادگیری هرحیوان وجود دارد، داده‌ها با آزمون آنالیزواریانس یکطرفه (ANOVA) برای داده‌های غیرپارامتریک (Kruskal-walis) و تحزیه و تحلیل شدند. برای بررسی جفت گروه‌ها از روش Mann-withy U-test استفاده شد. به‌منظور تعیین وجود اختلاف معنی‌دار از نظر locomotion بین گروه‌ها، از روش آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و آزمون توکی (Tukey's test) استفاده گردید درتمام ارزیابی‌های آماری، حداقل P<۰/۰۵ معیار معنی‌دار بودن مقایسهٔ بین گروه‌ها بوده است.

## یافته ها

*آزمایش اول : نتایج تزریق پس از آموزش WIN55,212-2 روی حافظه اجتنابی مهاری در موش‌های کوچک آزمایشگاهی.*

آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه Kruskal-Wallis و آزمون مکمل Mann-Whitney نشان داد که تزریق پس ازآموزش(µg/mouse,intra-CA1 ۱، ۰/۵، ۰/۲۵) WIN55,212-2 حافظه را کاهش می‌دهد (ANOVA،H(۴)=۲۲/۴۰،P<۰/۰۰۱)(شکل‌شماره۱- الف).

آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه Kruskal-Wallis و آزمون مکمل Mann-Whitney نشان دادند که بکار بردن (µg/mouse ۱و۰/۵)، WIN55,212-2 قبل از آزمون قادر به بهبود حافظه تخریب شده با WIN55,212-2 در روز آموزش می‌باشد (ANOVA ، H (۳) = ۲۳/۵۹ ، P < ۰/۰۰۱) (شکل شماره۱- ب).

Archive of SID



www.SID.ir

همچنین بررسی فعالیت حرکتی نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مختلف وجود ندارد.

*۲- آزمایش دوم: نتایج تزریق درون مغزی L-NAME قبل از آزمون روی حافظه تخریب شده توسط WIN55, 212-2*

آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه Kruskal-Wallis نشان داد که بکار بردن L-NAME به تنهایی قبل از آزمون تاثیری روی حافظه اجتنابی مهاری ندارد (ANOVA ، H (۳) = ۴/۰۹ ، P > ۰/۰۵)، (شکل شماره۲- الف).

بعلاوه تحلیل واریانس یک طرفه Kruskal-Wallis مشخص نمود که بکار بردن L-NAME قبل از آزمون نمی‌تواند حافظه تخریب شده توسط تزریق بعد از آموزش WIN55,212-2 را تغییر دهد(ANOVA ، H(۳) = ۷/۲۳ ، P>۰/۰۵) (شکل شماره۲- ب).

همچنین بررسی فعالیت حرکتی نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مختلف وجود ندارد.

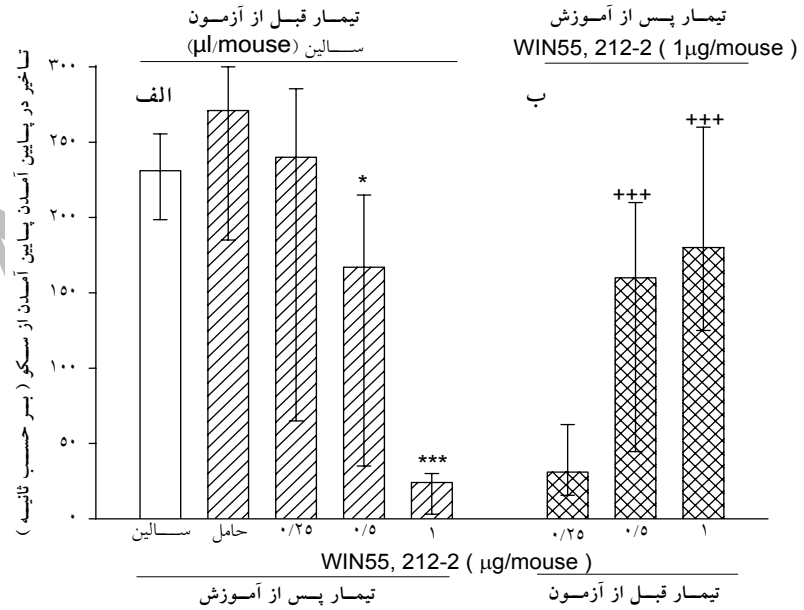
*۳- آزمایش سوم: نتایج تزریق درون مغزی L-NAME قبل از آزمون بر یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با WIN55, 212-2*

آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه Kruskal-Wallis و آزمون مکمل Mann-Whitney نشان داد بکار بردن(۳ µg/mouse) L-NAME قبل از آزمون، بازگشت حافظه القاء شده با WIN55, 212-2 روز آزمون را درموش‌هایی که در روز آموزش نیز تحت تاثیر WIN55,212-2 قرار داشتند، کاهش می‌دهد (ANOVA ، H(۳)=۱۱/۷۴،P<۰/۰۰۱)(شکل شماره۳).

همچنین بررسی فعالیت حرکتی نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری از نظر فعالیت حرکتی بین گروه‌های مختلف وجود ندارد.

## بحث

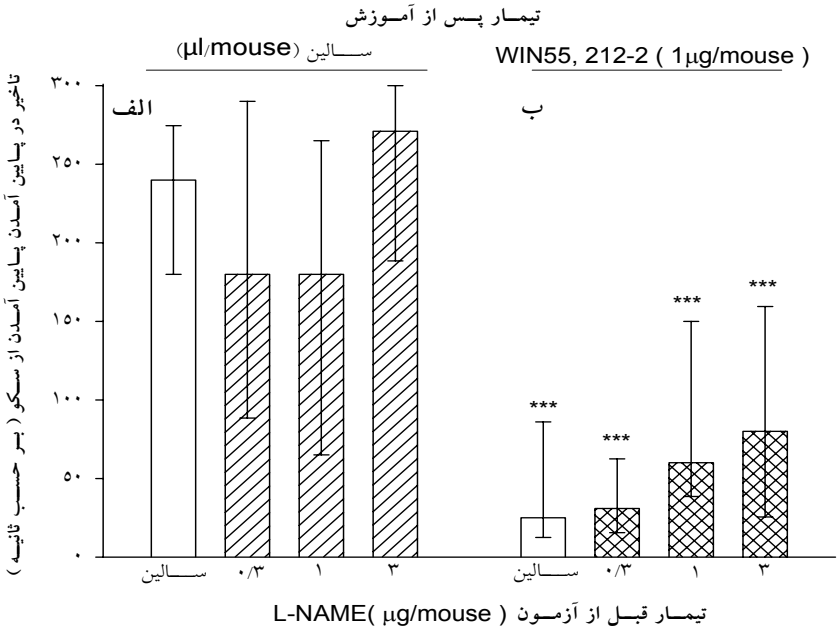
مطالعات نشان می‌دهند که گیرنده‌های CB1 به مقدار زیادی در هیپوکامپ بیان می‌شوند. همچنین



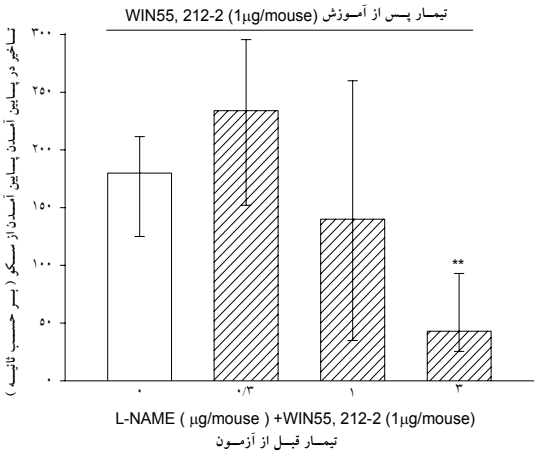

**شکل شماره ۱:** آثار تزریق پس از آموزش WIN55,212-2 به تنهایی (الف) و اثر تزریق پس از آموزش و پیش از آزمون WIN55,212-2 بر حافظه اجتنابی مهاری (ب). ۰/۰۰۱>P***، ۰/۰۵>P* در مقایسه با گروه سالین/ سالین و ۰/۰۰۱>P+++ در مقایسه با سالین/ WIN55, 212-2 می باشد.



Archive of SID
www.SID.ir




**شکل شماره ۲ :** اثر L-NAME بر حافظه اجتنابی مهاری(الف) و بر حافظه اجتنابی تخریب شده با WIN55, 212-2 (ب). (***P< ۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه سالین/ سالین می‌باشد.




**شکل شماره ۳ :** اثرL-NAME بر یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با WIN55, 212-2. (**P< ۰/۰۱) در مقایسه با گروه WIN55, 212- 2/ WIN55, 212-2 می باشد.

مطالعات نشان می‌دهد که آگونیست‌های گیرنده‌های CB1 می‌توانند حافظه و یادگیری را تحت تاثیر قرار دهند(۱۲). مطالعات ما نیز نشان می‌دهد که تزریق بعد از آموزش آگونیست غیراختصاصی گیرنده‌های کانابینوئیدی، WIN55,212-2 به صورت درون مغزی در هیپوکامپ پشتی به صورت وابسته به مقدار، سبب تخریب حافظه می‌شود. نتایج ما با مطالعات پیشین که نشان می‌دهد آگونیست گیرنده‌های کانابینوئیدی سبب تخریب حافظه می‌شود، موافق است(۱۳). گزارش شده است که آندوکانابینوئیدها از نورون‌های پس سیناپسی آزاد می‌شود و آزاد سازی نورترانسمیترهای مختلف را از نورون‌های پیش سیناپسی کاهش می‌دهد(۱۴). مطالعات اخیر نشان می‌دهند که گیرنده‌های CB1 در پایانه آکسونی نورون‌های گلوتاماتی در هیپوکامپ حضور دارد و انتقال پیام‌های گلوتاماتی را کنترل می‌نماید(۱۵). بنابراین این احتمال وجود دارد که تخریب حافظه توسط آگونیست گیرنده‌های CB1 به واسطه کاهش رهایش گلوتامات در هیپوکامپ صورت گیرد. به نظر می‌رسد فراموشی القاء شده با کانابینوئیدها، با اثر دارو روی فرآیند تثبیت حافظه صورت می‌گیرد(۱۶).

Archive of SID


www.SID.ir

فراموشی القاء شده با تزریق بعد از آموزش (1µg/mouse) WIN55-212-2 ، به طور کامل با تزریق همان مقدار دارو، پنج دقیقه قبل از آزمون به حالت عادی بر می‌گردد. این نتایج نشان می‌دهد که WIN55-212-2 یادگیری وابسته به وضعیت ایجاد می‌نماید. یادگیری وابسته به وضعیت پدیده‌ای است که توسط برخی از داروهای مقلد حالات روانی در انسان ایجاد می‌شود. در این پدیده به یاد آوری اطلاعات تازه، تنها زمانی امکان‌پذیر است که جاندار درزمان به خاطر آوردن اطلاعات در همان شرایط فیزیولوژیک زمان کدبندی(encoding) قرارگیرد(۱۷). سیستم کانابینوئیدی و سیستم اپیوئیدی شباهت‌های زیادی با یکدیگر دارند، مطالعات پیشین نشان می‌دهند که مرفین یادگیری وابسته به وضعیت ایجاد می‌نماید و یادگیری وابسته به وضعیت ایجاد شده با مرفین با سیستم های نورترنس میتری مختلف از جمله دوپامین، هیستامین، استیل کولین، گلوتامات، کانابینوئیدها و نیتریک اکساید(۱۸) برهمکنش نشان می‌دهد. با توجه به شباهت زیاد سیستم کانابینوئیدی و اپیوئیدی این احتمال وجود دارد که کانابینوئیدها نیز پاسخ مشابهی را ایجاد نمایند.

تحقیقات زیادی‌که روی یادگیری وابسته به وضعیت صورت گرفته است و داروهای متعددی‌که می‌توانند یادگیری وابسته به وضعیت ایجاد کنند، شناسایی و مورد بررسی قرار گرفته‌اند و برهمکنش آنها با سیستم های مختلف نیز مورد بررسی قرار گرفته است، اما مکانیسم واقعی یادگیری وابسته به‌وضعیت و ناحیه‌ای از مغز که در ایجاد یادگیری وابسته به وضعیت نقش دارد هنوز مشخص نیست. ازطرف دیگر هیپوکامپ بخشی از مغز است که نقش اساسی در حافظه و یادگیری دارد(۱۹). همچنین نیتریک اکساید یکی از تعدیل‌کننده‌های اعمال نورون‌ها می‌باشد که در تغییر شکل سیناپسی، تقویت درازمدت سیناپسی و تثبیت حافظه درازمدت نقش دارد(۲۰). بنابراین در این مطالعه نقش مهار کننده آنزیم نیتریک اکساید سنتاز در هیپوکامپ پشتی در یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با WIN55-212-2 مورد بررسی قرار گرفته است.

نتایج ما در این پژوهش نشان می‌دهد که مهارکننده آنزیم نیتریک اکساید سنتاز L-NAME بازگشت حافظه توسط WIN55,212-2 روز آزمون را در موش‌هایی‌که در روز آموزش نیز تحت تاثیر WIN55,212-2 بوده‌اند کاهش می‌دهد. این نتایج نشان می‌دهد که L-NAME می‌تواند یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با WIN55,212-2 را مهار نماید. تحقیقات نشان می‌دهند که تزریق بعد از آموزش مهارکننده‌های نیتریک اکساید سنتاز، می‌تواند تثبیت حافظه را در مدل‌های مختلف حافظه(۲۱) ازجمله درمدل یادگیری اجتنابی مهاری تخریب نماید(۲۲). این نتایج موافق با نتایج دیگری می‌باشد که نشان می‌دهد فعال شدن گیرنده‌های کانابینوئیدی سبب افزایش سطح نیتریک اکساید می‌شود(۲۳). بنابراین کاهش سطح نیتریک اکساید توسط مهارکننده آنزیم نیتریک اکساید سنتاز ممکن است اثرات WIN55,212-2 در به یادآوری اطلاعات کسب شده، بلوک نماید. بعلاوه فعال شدن گیرنده‌های آمینواسیدهای تحریکی، به ویژه گیرنده‌های NMDA موجب افزایش فعالیت آنزیم نیتریک اکساید سنتاز می‌شود(۲۴) و ازاین طریق موجب ایجاد اثرات شناختی و غیرشناختی مختلف می‌شود، در حالیکه مهارکننده‌های نیتریک اکساید سنتاز می‌توانند بسیاری از اثرات میانجی‌گری شده با گیرنده‌های NMDA را مهار نمایند(۲۱).

ملاحضه اثرات مهاری L-NAME زمانی‌که به صورت همزمان با WIN55, 212-2 قبل از آزمون و به صورت درون مغزی در هیوکامپ پشتی تزریق می‌شوند، این احتمال را مطرح می‌نمایدکه یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با WIN55,212-2 ، ساخت و رهایش نیتریک اکساید را افزایش می‌دهد،که این اثرتوسط مهارکننده‌های نیتریک اکساید سنتاز خنثی شده و مهار می‌شود.

Archive of SID


www.SID.ir

## References


1. Bratti CM, Kopf SR. A nitric oxide synthase inhibitor impairs memory storage in mice. Neurobiol Learn Mem 1996; 65: 197-201.
2. Bisogno T, Maurelli S, Melck D, De Petrocellis L, Di Marzo V. Biosynthesis, uptake, and degradation of anandamide and palmitoylethanolamide in leukocytes. J Biol Chem 1997; 272; 3315-3323.
3. Cuellar B, Fernandez AP, Lizasoain I, Moro M.A, Lorenzo P, Bentura M.L, et al. Up-regulation of neuronal NO synthase immunoreactivity in opiate dependence and withdrawal. Psychopharmacology (Berl) 2000; 148: 66-73.
4. Davies SN, Pertwee RG, Riedel G. Functions of cannabinoid receptors in the hippocampus. Neuropharmacology 2002; 42: 993-1007.
5. De Oliveira Alvares L, Genro BP, Diehl F, Quillfeldt JA. Differential role of the hippocampal endocannabinoid system in the memory consolidation and retrieval mechanisms. Neurobiol Learn Mem 2008; 90: 1-9.
6. Di Marzo V, Fontana A, Cadas H, Schinelli S, Cimino G, Schwartz JC, et al. Formation and inactivation of endogenous cannabinoid anandamide in central neurons. Nature 1994; 372: 686-691.
7. Domenici MR, Azad SC, Marsicano G, Schierloh A, Wotjak C.T, Dodt H.U, et al. Cannabinoid receptor type 1 located on presynaptic terminals of principal neurons in the forebrain controls glutamatergic synaptic transmission. J Neurosci 2006; 26: 5794-5799.
8. Everitt BJ, Robbins TW. Central cholinergic systems and cognition. Annu Rev Psychol 1997; 48: 649-684.
9. Farr SA, Flood JF, Morley J.E. The effect of cholinergic, GABAergic, serotonergic, and glutamatergic receptor modulation on posttrial memory processing in the hippocampus. Neurobiol Learn Mem 2000; 73: 150-167.
10. Garthwaite J, Garthwaite G, Palmer R.M, Moncada S. NMDA receptor activation induces nitric oxide synthesis from arginine in rat brain slices. Eur J Pharmacol 1989; 172: 413-416.
11. Hiramatsu M, Sasaki M, Kameyama T. Effects of dynorphin A-(1-13) on carbon monoxide-induced delayed amnesia in mice studied in a stepdown type passive avoidance task. Eur J Pharmacol 1995; 282: 185-191.
12. Izquierdo I, Da Cunha C, Rosat R, Jerusalinsky D, Ferreira M.B, Medina J.H. Neurotransmitter receptors involved in post-training memory processing by the amygdala, medial septum, and hippocampus of the rat. Behav Neural Biol 1992; 58: 16-26.
13. Jeon YJ, Yang KH, Pulaski JT, Kaminski N.E. Attenuation of inducible nitric oxide synthase gene expression by delta 9-tetrahydrocannabinol is mediated through the inhibition of nuclear factor- kappa B/Rel activation. Mol Pharmacol 1996; 50: 334-341.
14. Kobilo T, Hazvi S, Dudai Y. Role of cortical cannabinoid CB1 receptor in conditioned taste aversion memory. Eur J Neurosci 2007; 25: 3417-3421.
15. Munro S,Thomas K.L,Abu-Shaar M.Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. Nature 1993; 365: 61-65.
16. Paxinos G, Franklin KBJ. The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates. 2nd Ed. Academic Press. 2001.
17. Prast H, Philippu A. Nitric oxide as modulator of neuronal function. Prog Neurobiol 2001; 64: 51-68.
18. Shulz D.E, Sosnik R, Ego V, Haidarliu S, Ahissar E. A neuronal analogue of state-


Archive of SID



www.SID.ir

dependent learning. Nature 2000; 403: 549-553.

19. Sullivan JM. Mechanisms of cannabinoid-receptor-mediated inhibition of synaptic transmission in cultured hippocampal pyramidal neurons. J Neurophysiol 1999; 82: 1286-1294.
20. Telegdy G, Kokavszky R. The role of nitric oxide in passive avoidance learning. Neuropharmacology 1997; 36: 1583-1587.
21. Wan RQ, Pang K, Olton DS. Hippocampal and amygdaloid involvement in nonspatial and spatial working memory in rats: effects of delay and interference. Behav Neurosci 1994; 108: 866-882.
22. Wilson RI, Yanovsky J, Godecke A, Stevens DR, Schrader J, Haas H.L. Endothelial nitric oxide synthase and LTP. Nature 1997: 386, 338.
23. Xu X, Boshoven W, Lombardo B, Spranger J. Comparison of the amnestic effects of NMDA receptor antagonist MK-801 and nitric oxide synthase inhibitors: L-NAME and L-NOARG in goldfish. Behav Neurosci 1998; 112: 892-869.
24. Zarrindast MR, Askari E, Khalilzadeh A, Nouraei N. Morphine state-dependent learning sensitization and interaction with nitric oxide. Pharmacology 2006; 78: 71-66.

Archive of SID


www.SID.ir