مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان/ دوره شانزدهم/ پائیز ۱۳۹۰/ ۸۴-۹۴

تأثیر WIN55,212-2 بر یادگیری وابسته به وضعیت مورفین در مدل یادگیری اجتنابی مهاری

مجید نوائیان[۱]، مرتضی پیری[۲]، بهاره پاکپور[۳]

۱- استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر ری، تهران، ایران

۲- استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل، اردبیل، ایران، (مؤلف مسؤول)

تلفن: ۰۴۵۱-۷۷۲۸۰۲۰ biopiri@iauardabil.ac.ir

۳- استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز، تهران، ایران

چکیده

زمینه و هدف: کانابینوئیدهای درون زاد و مواد اپیوئیدی هر دو به مقدار زیاد در مغز بیان می‌شوند و نقش مهمی در تعدیل فرآیندهای عصبی برعهده دارند. در این مطالعه نقش احتمالی سیستم کانابینوئیدی هیپوکامپ پشتی بر روی فراموشی القاء شده با مورفین و یادگیری وابسته به وضعیت مورفین در موشهای سوری نر مورد بررسی قرار گرفته است.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی از ۲۵۵ سر موش کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMRI استفاده شد. نمونه‌ها پس از بیهوشی در دستگاه استریوتاکسی قرار گرفتند و کانول گذاری دو طرفه در ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی انجام شد. بعد از طی دوره بهبودی هفت روزه، آزمون رفتاری با استفاده از دستگاه یادگیری احترازی غیر فعال آغاز شد. در این مطالعه مورفین به عنوان آگونیست گیرنده اپیوئیدی و WIN55,212-2 به عنوان آگونیست گیرنده کانابینوئیدی استفاده شده است.

یافته‌ها: تزریق درون صفاقی مورفین بلافاصله بعد از آموزش به صورت وابسته به دوز تثبیت حافظه اجتنابی مهاری را در حیوان کاهش داد (P<۰/۰۱). فراموشی القاء شده با تزریق بعد از آموزش مورفین با تزریق همان مقدار مورفین قبل از آزمون اصلاح می‌گردد (P<۰/۰۰۱)، که به این حالت یادگیری وابسته به وضعیت گفته می‌شود. تزریق قبل از آزمون WIN55,212-2 به ناحیه هیپوکامپ پشتی فراموشی القاء شده با مورفین را به حالت عادی برمی‌گرداند (P<۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: این یافته‌ها نشان می‌دهند که گیرنده‌های کانابینوئیدی ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی نقش مهمی در فراموشی القاء شده با مورفین و یادگیری وابسته به وضعیت مورفین بازی می‌کنند.

کلید واژه‌ها: کانابینوئیدها، مورفین، یادگیری اجتنابی مهاری

وصول مقاله: ۸۹/۱۱/۲۵ اصلاحیه نهایی: ۹۰/۲/۲۱ پذیرش مقاله: ۹۰/۶/۱۵

مقدمه

شکل‌گیری حافظه دراز مدت یک فرآیند پیچیده می‌باشد که در آن میانجی‌های عصبی مختلف دخیل می‌باشند (۱). اپیوئیدها جزء ترکیبات مهمی هستند که می‌توانند یادگیری و حافظه را تحت تأثیر قرار دهند (۱). مطالعات قبلی نشان می‌دهند که مورفین و اپیوئیدهای مشابه، با اثر بر روی گیرنده‌های μ و δ حافظه و یادگیری را در مدل‌های مختلف حافظه از جمله حافظه اجتنابی مهاری، ماز شعاعی و ماز آبی تخریب می‌نمایند (۲). همچنین گزارشاتی وجود دارد که نشان می‌دهد در بیماری آلزایمر میل ترکیبی گیرنده‌های μ اپیوئیدی کاهش می‌یابد (۳). کانابینوئیدها به مانند اپیوئیدها می‌توانند حافظه و یادگیری را در مدل‌های مختلف تخریب نمایند (۵ و۴). بیشتر اثرات کانابینوئیدها از طریق

گیرنده‌های کانابینوئیدی میانجی‌گری می‌شود. کانابینوئیدها به صورت اصلی دارای دو گیرنده CB1 و CB2 می‌باشند، که گیرنده‌های CB1 به صورت غالب در سیستم عصبی مرکزی بیان می‌شوند، در حالی که گیرنده‌های CB2 به صورت گسترده در بافتهای محیطی بویژه در سلول‌های ایمنی بیان می‌شوند (۶). اخیراً گیرنده‌های جدید کانابینوئیدی موسوم به CB3 نیز در سیستم عصبی شناسایی و گزارش شده است (۷). WIN55,212-2 یک آگونیست سنتتیک گیرنده‌های کانابینوئیدی می‌باشد که به مانند برخی دیگر از آگونیست‌های گیرنده‌های کانابینوئیدی نظیر دلتا ـ۹ـ تترا هیدرو کانابینول، HU-210، CP55940 و آناندامید، میل ترکیبی تقریباً یکسانی نسبت به گیرنده‌های CB1 و CB2 دارد. مشخص شده که WIN55,212-2 به واسطه اثر بر روی گیرنده‌های کانابینوئیدی، علاوه بر اثر بر روی رهایش نوروترانس میترهای مختلف (۹و۸) باعث مهار کانال‌های وابسته به ولتاژ نوع N و P/Q در سلول‌های هیپوکامپی کشت شده می‌شود (۱۱و۱۰).

مطالعات پیشین نشان می‌دهد که آگونیست گیرنده‌های کانابینوئیدی WIN55,212-2 و مورفین قادر به ایجاد یادگیری وابسته به وضعیت می‌باشد. یادگیری وابسته به وضعیت پدیده‌ای است که در آن به یادآوری اطلاعات تازه کسب شده تنها در شرایطی صورت می‌گیرد که فرد از لحاظی حسی و فیزیولوژیک در همان شرایطی قرار گیرد که اطلاعات در همان شرایط کد شده است (۱۴-۱۲). علاوه بر مورفین، داروهای مختلفی مانند WIN55,212-2 که به عنوان آگونیست گیرنده‌های کانابینوئیدی عمل می‌کند (۱۵)، لیتیم (۱۶) و هیستامین (۱۷) قادر به ایجاد یادگیری وابسته به وضعیت می‌باشند.

مورفین و کانابینوئیدها هر دو جزء داروهایی هستند که مورد سوء مصرف قرار می‌گیرند (۱۸). افزایش رهایش دوپامین از ناحیه تگمنتوم شکمی ویژگی مشترک بسیاری از داروهای اعتیادآور از جمله مورفین و کانابینوئیدها می‌باشد (۱۹). همچنین کانابینوئیدها به مانند اپیوئیدها به صورت درون زاد تولید می‌شوند و کانابینوئیدهای درون زاد علاوه بر گیرنده‌های کانابینوئیدی می‌توانند عملکرد گیرنده‌های اپیوئیدی (۲۰) را با برهمکنش مستقیم با این گیرنده‌ها تحت تأثیر قرار دهند. علاوه بر شباهتهای فوق بین سیستم اپیوئیدی و کانابینوئیدی شباهتهای زیاد دیگری نیز وجود دارد. مطالعات نشان داده است که گیرنده‌های مورفین و کانابینوئیدها هر دو از نوع گیرنده‌های G پروتئینی می‌باشند که با G پروتئین نوع Gi/Go جفت شده‌اند (۲۱). فعال شدن گیرنده‌های کانابینوئیدی و اپیوئیدی هر دو باعث فعال شدن مسیر MAPK[1]، تعدیل کنداکتانس کانال‌های پتاسیمی از طریق پروتئین کیناز C و مهار ورود کلسیم از طریق کانال‌های وابسته به ولتاژکلسیم می‌شود (۲۱). فعال شدن رسپتورهای پیش سیناپسی اپیوئیدها و کانابینوئیدها رهایش تعدادی از نوروترانس میترها را کاهش می‌دهد و نقش مهمی در فرآیند حافظه و یادگیری دارند. گیرنده‌های اپیوئیدی و کانابینوئیدی در برخی از نواحی مغز مانند دستگاه لیمبیک، مزنسفال، ساقه مغز و نخاع همپوشانی دارند (۲۳ و۲۲). با توجه به همپوشانی گیرنده‌های اپیوئیدی و کانابینوئیدی و با در نظر گرفتن شباهت موجود بین مسیر انتقال پیام در سلول برای این دو ماده، احتمال برهمکنش بین آنها وجود دارد. علاوه بر موارد ذکر شده بین WIN55,212-2 که به عنوان آگونیست گیرنده‌های کانابینوئیدی عمل

---

[1] mitogen-activated protein kinase pathway

می‌نماید و مورفین از نظر کاهش دمای بدن، تسکین درد، افت فشار، مهار حرکات روده و سرکوب حرکت نیز شباهت وجود دارد (۲۴).

در مطالعات پیشین برهمکنش بین سیستم کانابینوئیدی و اپیوئیدی در زمینه‌های مختلف مانند ترجیح مکان شرطی به اثبات رسیده است (۲۶و۲۵). همچنین مطالعات ما نشان می‌دهد که حساس نمودن موشها با مورفین می‌توان اثر کانابینوئیدها بر روی حافظه را تحت تأثیر قرار دهد (۲۷). در مطالعات پیشین همچنین نشان داده شده است که مورفین و کانابینوئیدها قادر به ایجاد یادگیری وابسته به وضعیت می‌باشند، اما تاکنون اثر کانابینوئیدها بر روی یادگیری وابسته به وضعیت مورفین مورد بررسی قرار نگرفته است. لذا در این مطالعه برای اولین بار با استفاده از WIN55, 212-2 که به عنوان آگونیست گیرنده‌های کانابینوئیدی عمل می‌نماید، اثر کانابینوئیدها بر روی یادگیری وابسته به وضعیت آلقاء شده با مورفین مورد بررسی قرار گرفته است.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، از موشهای کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMRI (وزن تقریبی ۳۰-۲۲ گرم) که از انستیتو پاستور ایران تهیه شد، استفاده گردید. حیوانها بعد از انتقال به حیوانخانه تحقیقاتی، در قفس‌های ده تایی با دوره شبانه روزی طبیعی (۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی) و در دمای ۳ ± ۲۲ درجه سانتیگراد، با آب و غذای کافی نگهداری شدند. در هر سری آزمایش ده سر موش استفاده شد.

دستگاه یادگیری اجتنابی مهاری، مدل Step-down که ساخت شرکت برج صنعت (تهران ـ ایران) می‌باشد، جعبه چوبی به ابعاد (۴۰×۳۰×۳۰ سانتی‌متر) است. کف دستگاه دارای ۲۹ میله فولادی با قطر ۰/۳ سانتی‌متر می‌باشد که به فاصله ۱ سانتی‌متر از یکدیگر قرار گرفته‌اند، این میله‌ها به دستگاه تحریک‌کننده متصل شده و شوک الکتریکی از طریق این میله‌ها به حیوانات مورد آزمایش وارد می‌شود. یک سکوی مکعبی چوبی به ابعاد (۴×۴×۴ سانتی‌متر) در قسمت میانی کف دستگاه (روی میله های فلزی) قرار گرفته است، که حیوانات هنگام انجام آزمایشات به آرامی در روی این سکو قرار داده می‌شوند.

داروها

در این تحقیق داروهای WIN55, 212-2 که به عنوان آگونیست گیرنده‌های کانابینوئیدی CB1 و CB2 عمل می‌نماید (تاکریس، آمریکا) و مورفین که به عنوان آگونیست گیرنده‌های اپیوئیدی عمل می‌کند (تماد، ایران) مورد استفاده قرار گرفت. مورفین در سرم فیزیولوژی استریل ۰/۹ درصد حل شد، در حالیکه WIN55, 212-2 در محلول حاملی حل شدند که ۹۰ درصد آن سرم فیزیولوژی استریل ۰/۹ درصد و ۱۰ درصد باقیمانده دی متیل سولفوکسید (DMSO) به همراه یک قطره روغن توئین۸۰ بود.

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

موشهای کوچک آزمایشگاهی توسط تزریق کتامین هیدروکلرید (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بعلاوه گزیلزین (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند. بعد از بیهوشی حیوانات در دستگاه استریوتاکسی قرار داده شدند و دو کانول راهنما (اندازه ۲۲) یک میلی‌متر بالاتر از محل تزریق، بر اساس اطلس پاکسینوس (۲۰۰۱) قرار داده شد. مختصات ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی عبارت بود از : AP = –۲ ، ML = ±۱/۶ ، V = –۱/۵ (۲۸) . بعد

از قرار دادن کانول در مختصات مورد نظر با استفاده از سیمان دندان پزشکی کانول‌های راهنما در جای خود محکم شدند. پس از جراحی و قبل از تزریق درون مغزی دارو، به حیوان اجازه داده شد ۵ تا ۷ روز دوره بهبودی پس از جراحی را به منظور رفع استرس و تخریب بافتی احتمالی توسط جراحی سپری کرده، به حالت عادی خود برگردند.

آزمونهای رفتاری

یادگیری اجتنابی مهاری مدل step-down روشی مورد قبول برای بررسی حافظه دراز مدت در موشهای کوچک آزمایشگاهی می‌باشد (۲۹). در این روش، بررسی حافظه در دو روز متوالی و بین ساعت ۸ صبح تا ۲ بعد از ظهر انجام می‌شود. روز اول یا روز آموزش (Training day) شامل آموزش دادن حیوانها در دستگاه می‌باشد و در روز دوم یا روز آزمون (Testing day) میزان حافظه حیوانهای آموزش دیده بررسی می‌شود.

مرحله آموزش

در روز آموزش هر حیوان به آرامی روی سکوی مکعبی دستگاه ارزیابی حافظه قرار گرفت و مدت زمان توقف روی سکو (قبل از پایین آمدن) ثبت می‌شد. در صورتی که هر موش بیش از ۲۰ ثانیه روی سکو می‌ماند آن موش حذف می‌شود. بلافاصله بعد از پایین آمدن موش از مکعب چوبی و قرار گرفتن چهار پای مؤثر بر روی میله‌های فولادی شوک الکتریکی به مدت ۱۵ثانیه (۱ هرتز، ۰/۵ ثانیه و ۴۵ ولت مستقیم) توسط حیوان دریافت شد. لازم به ذکر است که در یادگیری اجتنابی مهاری مدل step-down حیوان در روز آموزش فقط یک بار در داخل دستگاه یادگیری اجتنابی قرار گرفته و فقط یک مرحله آموزش را تجربه می‌کرد.

مرحله آزمون یا بررسی حافظه

جلسه آزمون ۲۴ساعت بعد از آموزش، مشابه آموزش انجام شد. با این تفاوت که حیوانات مورد آزمایش در روز آزمون شوک دریافت نمی‌کردند. مدت زمان توقف موش بر روی سکو در روز آزمون به عنوان معیار حافظه در موش اندازه‌گیری شد، که حداکثر زمان برای توقف موش روی سکو (زمان سقف cut-off) برابر با ۳۰۰ ثانیه بود که به عنوان حافظه کامل در نظر گرفته شد.

تزریق درون مغزی دارو

برای تزریق دارو پس از برداشتن سیم داخل کانول راهنما، سر سوزن دندانپزشکی شماره ۲۷ که ۹ میلی‌متر طول داشت و به کت دان تیوب نوزاد (شماره ۴) متصل بود، در داخل کانول راهنما شماره ۲۲ قرار داده شد و در هر کانول ۰/۵ میکرولیتر دارو در مدت ۹۰-۶۰ ثانیه تزریق شد. تزریق ۰/۵ میکرولیتر دارو در مدت ۹۰-۶۰ ثانیه به صورتی دستی کنترل می‌شد و به منظور تزریق از سرنگ همیلتون یک میکرولیتری که ساخت کشور سوئیس بود استفاده شد. در طول تزریق به حیوان اجازه داده شد بدون هیچ استرسی آزادانه حرکت کند.

بافت شناسی

پس از کشتن حیوانها توسط کلروفرم، ۰/۵ میکرولیتر رنگ متیلن بلو ۱٪ به داخل هر کانول تزریق شد، سپس مغز از درون جمجمه بیرون آورده شده 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 شده و محل ورود کانول به مغز به وسیله میکروسکوپ لوپ مورد مطالعه قرار گرفت. جهت مطالعه مقاطع بافتی تهیه شده، از اطلس پاکسینوس استفاده می‌شد.

تیمارهای دارویی و آزمایش های انجام شده

بررسی اثر تزریق پس از آموزش مورفین بر حافظه اجتنابی مهاری:

از چهار گروه حیوان استفاده شده در این آزمایش، گروه اول بلافاصله پس از آموزش سالین و سه گروه باقی مانده مقادیر مختلف مورفین (۱، ۳ ، ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را به صورت درون صفاقی دریافت کردند (نمودار ۱).

بررسی اثر مورفین روز آزمون بر فراموش القاء شده با مورفین روز آموزش:

هر چهار گروه بلافاصله پس از آموزش دوز مؤثر مورفین (۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را به صورت درون صفاقی دریافت کردند و در روز آزمون گروه‌ها مختلف مقادیر مختلف مورفین (۰، ۱، ۳، ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را ۳۰ دقیقه قبل از تست به صورت درون صفاقی دریافت داشتند (نمودار ۲).

بررسی اثر WIN55, 212-2 بر حافظه اجتنابی مهاری تخریب شده با مورفین:

در این آزمایش هشت گروه حیوان به کار رفت. چهار گروه اول بلافاصله بعد از آموزش سالین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و چهار گروه بعدی در همین زمان دوز مؤثر مورفین (۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را به صورت درون صفاقی دریافت کردند. در روز آزمون تمامی گروه‌ها مقادیر مختلف WIN55, 212-2 (۰/۹، ۰/۶، ۰/۳ و ۰ میکرو گرم بر موش) را پنج دقیقه قبل از آزمون به صورت درون مغزی دریافت داشتند (نمودار۳).

بررسی تأثیر تزریق مورفین بعلاوه WIN55, 212-2 بر حافظه اجتنابی تخریب شده ناشی ازمورفین:

از هفت گروه موش بکار رفته در این آزمایش، دو گروه اول در روز آموزش بلافاصله بعد از آموزش سالین یا مورفین (۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و در روز آزمون سالین را دریافت کردند، پنج گروه دیگر در روز آموزش مورفین (۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را دریافت کردند، در روز آزمون سه گروه از این موش‌ها مورفین (۳، ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) یا WIN55, 212-2 (۰/۳ میکرو گرم بر موش) را به تنهایی دریافت داشت و دو گروه باقی مانده مورفین (۳، ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بعلاوه WIN55, 212-2 (۰/۳ میکرو گرم بر موش) را قبل از آزمون دریافت کردند.

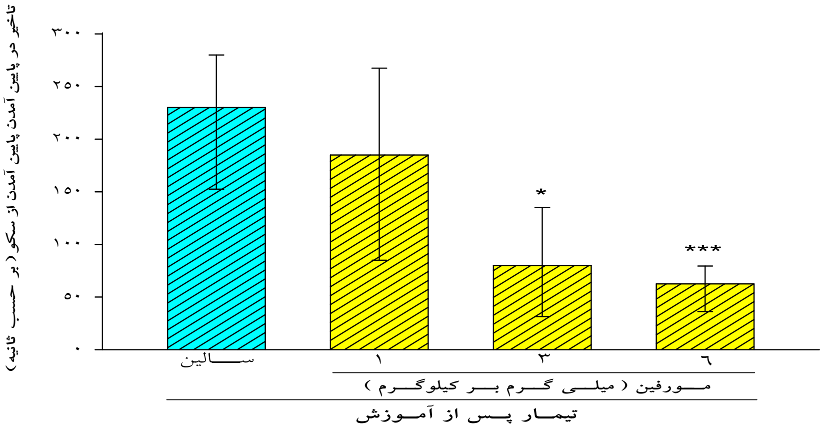
تجزیه و تحلیل آماری

در همه آزمایش‌ها، زمان توقف حیوان روی سکو به صورت میانه و چارک ثبت گردید. به علت تفاوتهای خاص زیادی که در پاسخهای یادگیری حیوانات وجود داشت، داده‌ها توسط آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و برای داده‌های غیر پارامتریک (Kruskal- wallis) و به دنبال آن برای بررسی جفت گروه‌ها از روش Mann- withy, U-test استفاده گردید . در تمام ارزیابی‌های آماری، حداقل P<۰/۰۵ معیار معنی‌دار بودن مقایسه بین گروهها بوده است. برای انجام محاسبات آماری از نرم افزار SPSS و رسم نمودارها از نرم افزار Sigmaplot استفاده شد.

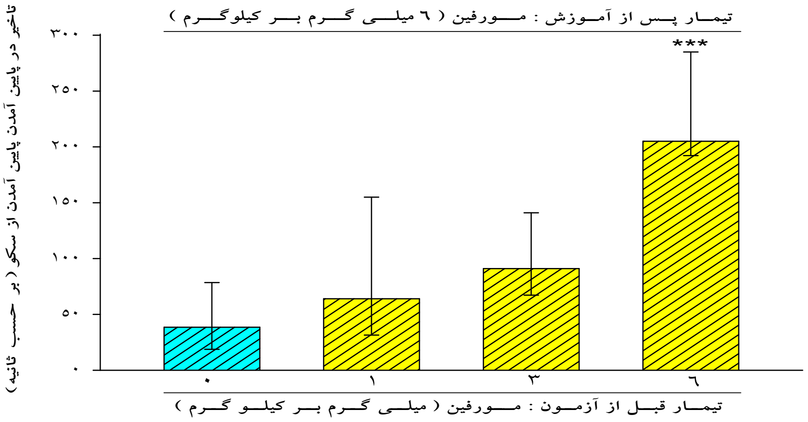
یافته‌ها

در آزمایش اول اثر مورفین بر روی حافظه اجتنابی مهاری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بدست آمده مشخص نمود که تزریق پس از آموزش مورفین (۶، ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم) باعث کاهش تأخیر در پایین آمدن از سکو می‌شود که نشان دهنده تخریب حافظه می‌باشد (P <۰/۰۱، H (۳) =۱۳/۹۷، ANOVA) (نمودار ۱). در آزمایش بعدی مشخص گردید که تزریق مورفین

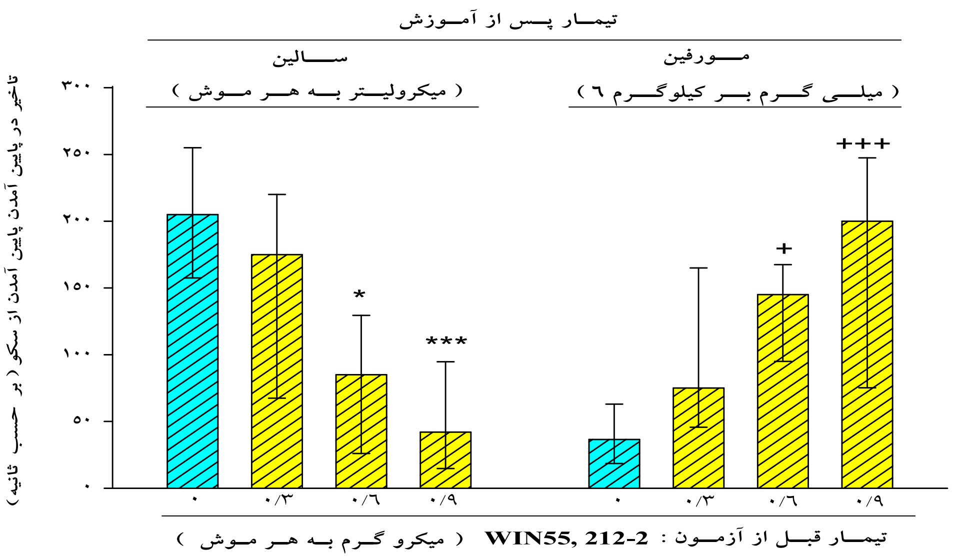
(۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) قبل از آزمون می‌تواند حافظه تخریب شده با مورفین روز آموزش را اصلاح نماید (P <۰/۰۰۱، H (۳)=۱۱/۵۷، ANOVA) (نمودار ۲). در آزمایش سوم نشان داده شد که تزریق WIN55, 212-2 (۰/۹ ، ۰/۶ میکروگرم بر موش) به تنهایی در روز آزمون به ناحیه هیپوکامپ پشتی باعث تخریب حافظه اجتنابی مهاری می‌شود (P۰/۰۰۱>، H (۳)=۱۲/۹۳، ANOVA)، ولی تزریق WIN55, 212-2 (۰/۹، ۰/۶ میکروگرم بر موش) به ناحیه هیپوکامپ پشتی موشهایی که در روز آموزش مورفین دریافت کرده‌اند، باعث بهبود حافظه تخریب شده با مورفین روز آموزش می‌باشد (P<۰/۰۰۱، H (۳)=۹/۱۳، ANOVA) (نمودار ۳). نتایج آزمایش چهارم (نمودار ۴) نشان می‌دهد که تزریق مقادیر غیر مؤثر مورفین (۳، ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و WIN55, 212-2 (۰/۳ میکروگرم بر موش) همراه با هم در روز آزمون به موشهایی که در روز آموزش تحت تأثیر دوز مؤثر مورفین (۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بوده‌اند، به صورت معنی‌داری باعث بهبود حافظه تخریب شده با دوز مؤثر مورفین در روز آموزش می‌شود (P<۰/۰۰۱، H (۶)=۸/۴۵، ANOVA).



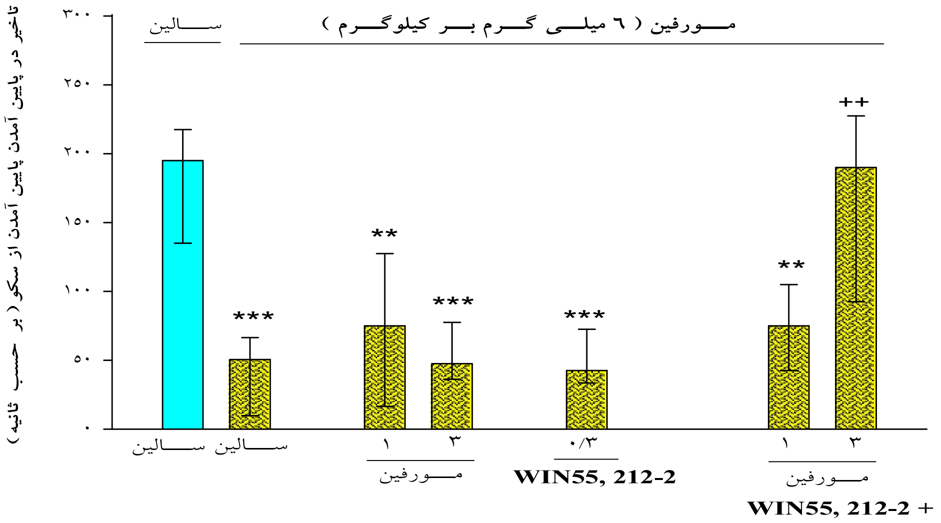
نمودار ۱: اثر تزریق پس از آموزش مورفین بر حافظه اجتنابی مهاری. داده‌ها به صورت میانه ± چارک برای ده سر حیوان می‌باشد. ***P<۰/۰۰۱ ، *P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه دریافت‌کننده سالین می‌باشد.



نمودار ۲: اثر تزریق قبل از آزمون مورفین بر حافظه اجتنابی مهاری تخریب شده توسط مورفین روز آموزش. داده‌ها به صورت میانه ± چارک برای ده سر حیوان می‌باشد. ***P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه دریافت‌کننده سالین می‌باشد.



نمودار ۳: اثر تزریق قبل از آزمون WIN55, 212-2 بر حافظه اجتنابی مهاری و حافظه اجتنابی مهاری تخریب شده با مورفین. داده‌ها به صورت میانه ± چارک برای ده سر حیوان می‌باشد. P<۰/۰۰۱*** ، P<۰/۰۵* در مقایسه با گروه دریافت‌کننده سالین و P< ۰/۰۰۱ +++ ، + <۰/۰۵ در مقایسه با گروه دریافت‌کننده مورفین می‌باشد.



نمودار ۴: اثر تزریق قبل از آزمون مقدار غیر مؤثر WIN55, 212-2 به تنهایی و در حضور مقادیر غیر مؤثر مورفین بر حافظه اجتنابی مهاری تخریب شده با مورفین. داده‌ها به صورت میانه ± چارک برای ده سر حیوان می‌باشد. P<۰/۰۰۱***، P< ۰/۰۱** در مقایسه با گروه دریافت‌کننده سالین و P <۰/۰۱ ++ در مقایسه با گروه دریافت‌کننده مورفین می‌باشد.

بحث

در این مطالعه اثر سیستم کانابینوئیدی ناحیه هیپوکامپ پشتی بر روی فراموشی و یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با مورفین مورد بررسی قرار گرفته است. برای تست حافظه از یادگیری اجتنابی مهاری مدل step-down که یک مدل پذیرفته شده برای بررسی

حافظه دراز مدت در جوندگان می‌باشد (۳۰)، استفاده شده است. نتایج مطالعات ما نشان می‌دهد که تزریق پس از آموزش مورفین باعث تخریب حافظه اجتنابی مهاری می‌شود. نتایج بدست آمده در این مطالعه همسو با گزارشاتی می‌باشد که نشان می‌دهند تزریق پس یا پیش از آموزش مورفین باعث تخریب حافظه در مدل‌های مختلف از جمله حافظه فضایی و حافضه اجتنابی مهاری می‌گردد (۳۲ و۳۱). همچنین نتایج ما نشان می‌دهد که تزریق پیش از آزمون مورفین به حیواناتی که در روز آموزش نیز تحت تأثیر دوز مؤثر مورفین (۶ mg/kg) بوده‌اند، باعث بهبود حافظه اجتنابی مهاری تخریب شده با مورفین روز آموزش می‌گردد، این پدیده یادگیری وابسته به وضعیت مورفین نامیده می‌شود (۳۳). در یادگیری وابسته به وضعیت برای به خاطر آوردن اطلاعات باید شرایط یکسانی در روز آموزش و آزمون حاکم باشد که در این مطالعه با تزریق دارو بطور یکسان در روز آموزش و آزمون این شرایط یکسان ایجاد شده است، به عبارت بهتر داروهای اعتیاد آوری مانند مورفین و کانابینوئیدها اگر تنها در روز آموزش یا روز آزمون بکار روند باعث تخریب حافظه می‌گردند، اما اگر هم در روز آموزش و هم در روز آزمون حضور داشته باشند با ایجاد شرایط یکسان باعث به یاد آوری اطلاعات کد شد در حضور دارو می‌گردند (۱۴-۱۲). یافته‌های ما در مطالعات قبلی نشان می‌دهند که چندین سیستم نورترانسمیتری از جمله دوپامین، هیستامین، استیل کولین، گلوتامات و گابا در یادگیری وابسته به وضعیت مورفین تا حدودی دخیل می‌باشند (۳۵ و۳۴). مطالعات پیشین همچنین نشان می‌دهند که علاوه بر مورفین داروهای مختلفی مانند کانابینوئیدها (۱۵)، لیتیم (۱۶) و هیستامین (۱۷) نیز قادر به ایجاد یادگیری وابسته به وضعیت می‌باشند.

در بخش بعدی این مطالعه به جای مورفین روز آزمون از آگونیست گیرنده کانابینوئیدی WIN55,212-2 استفاده شد تا مشخص گردد که آیا WIN55,212-2 قادر به تقلید اثر مورفین روز آزمون و تأثیرگذاری بر روی یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با مورفین می‌باشد؟ نتایج ما در این مطالعه نشان داد که تزریق قبل از آزمون WIN55,212-2 به ناحیه هیپوکامپ پشتی موشهای کوچک آزمایشگاهی باعث اصلاح حافظه اجتنابی مهاری تخریب شده با مورفین روز آموزش می‌شود. این یافته نشان می‌دهد که WIN55,212-2 قادر به تقلید اثر مورفین روز آزمون می‌باشد و به مانند مورفین روز آزمون باعث بهبود حافظه تخریب شده با مورفین روز آموزش می‌گردد. مطالعات نشان می‌دهند که اثرات کانابینوئیدها از بسیاری جهات مشابه اپیوئدها می‌باشند، کانابینوئیدها به مانند اپیوئیدها دارای اثرات ضد دردی و ضد التهابی می‌باشند و باعث سرکوب سیستم ایمنی بدن، افت فشار، مهار حرکات روده و سرکوب حرکات بدن و القاء فراموشی می‌شوند (۲۴و۶). با توجه به شباهتهایی که بین سیستم اپیوئیدی و کانابینوئیدی وجود دارد، این احتمال هست که مورفین و WIN55, 212-2 شرایط فیزیولوژیک یکسان را با اثر بر گیرنده‌های مختلف ایجاد نمایند. بنابراین می‌توان بیان داشت که WIN55, 212-2 قادر به تقلید اثر مورفین بوده و کانابینوئیدها می‌توانند یادگیری وابسته به وضعیت مورفین را تحت تأثیر قرار دهند. جالب‌تر اینکه تزریق مقادیر غیر مؤثر مورفین و WIN55,212-2 همراه با هم در روز آزمون باعث برگشت حافظه اجتنابی تخریب شده با دوز مؤثر مورفین در روز آموزش می‌شود. به

عبارت دیگر تزریق مقادیر غیر مؤثرWIN55,212-2 به همراه دوز غیر مؤثر مورفین که به تنهایی قادر به برگرداندن حافظه نیست باعث تقویت اثر مورفین می گردد و حافظه اجتنابی مهاری تخریب شده را اصلاح می‌نماید.

این یافته توسط مطالعاتی که نشان می‌دهند مورفین و کانابینوئیدها قادر به تقویت پاسخ ایجاد شده توسط همدیگر هستند مورد تائید قرار می گیرد. مطالعات نشان می‌دهند که مورفین و کانابینوئیدها هر دو قادر به القاء اثر ضد دردی و فعال نمودن مسیر پاداش در مغز می‌باشند و کانابینوئیدها می‌توانند اثرات ضد دردی و فعال شدن مسیر پاداش توسط مورفین را تقویت نمایند (۳۸-۳۶). بعلاوه برهمکنش بین مورفین و کانابینوئیدها در زمینه ترجیح مکان شرطی، مورد مطالعه قرار گرفته است و نتایج نشان می‌دهند که آنتاگونیست گیرنده کانابینوئیدی قادر به مهار ترجیح مکان شرطی القاء شده با مورفین می‌باشند (۲۶).

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که کانابینوئیدها می‌توانند فراموشی و یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با مورفین را تحت تأثیر قرار دهند. از طرف دیگر این نتایج تائیدکننده شباهت موجود بین سیستم کانابینوئیدی و اپیوئیدی می‌باشد و نشان می‌دهد که بین این دو سیستم در زمینه حافظه اجتنابی مهاری در ناحیه هیپوکامپ پشتی موش صحرایی برهمکنش وجود دارد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات خانم مریم‌السادات شاهین که ما را در آماده سازی این مقاله یاری نمودند، وهمچنین دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر ری که هزینه لازم برای انجام این کار پژوهشی را تامین نمود تقدیر و تشکر می‌شود.

References

1. Izquierdo I. Effect of naloxone and morphine on various forms of memory in the rat: possible role of engogenous opiate mechanisms in memory consolidation. Psychopharmacology (Berl). 1979; 66: 199-203.
2. Izquierdo I, Dias RD, Souza DO, Carrasco MA, Elisabetsky E, Perry ML. The role of opioid peptides in memory and learning. Behav Brain Res 1980; 1: 451-68.
3. Hiller JM, Itzhak Y, Simon EJ. Selective changes in mu, delta and kappa opioid receptor binding in certain limbic regions of the brain in Alzheimer's disease patients. Brain Res 1987; 17; 406: 17-23.
4. Al-Hayani A, Davies SN. Effect of cannabinoids on synaptic transmission in the rat hippocampal slice is temperature-dependent. Eur J Pharmacol 2002; 442: 47-54.
5. Nasehi M, Sahebgharani M, Haeri-Rohani A, Zarrindast MR. Effects of cannabinoids infused into the dorsal hippocampus upon memory formation in 3-days apomorphine-treated rats. Neurobiol Learn Mem 2009; 92: 391-9.
6. Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. Nature 1993; 365: 61-5.
7. Fride E, Foox A, Rosenberg E, Faigenboim M, Cohen V, Barda L, and et al. Milk intake and survival in newborn cannabinoid CB1 receptor knockout mice: evidence for a "CB3" receptor. Eur J Pharmacol 2003 7; 461: 27-34.

8. Schlicker E, Kathmann M. Modulation of transmitter release via presynaptic cannabinoid receptors. Trends Pharmacol Sci 2001; 22: 565-72.
9. Kathmann M, Weber B, Zimmer A, Schlicker E. Enhanced acetylcholine release in the hippocampus of cannabinoid CB(1) receptor-deficient mice. Br J Pharmacol 2001; 132: 1169-73.
10. Twitchell W, Brown S, Mackie K. Cannabinoids inhibit N- and P/Q-type calcium channels in cultured rat hippocampal neurons. J Neurophysiol 1997; 78: 43-50.
11. Shen M, Thayer SA. The cannabinoid agonist Win55,212-2 inhibits calcium channels by receptor-mediated and direct pathways in cultured rat hippocampal neurons. Brain Res 1998 ; 783: 77-84.
12. Izquierdo I, Dias RD. Memory as a state dependent phenomenon: role of ACTH and epinephrine. Behav Neural Biol 1983; 38: 144-9.
13. Overton DA. Basic mechanisms of state-dependent learning. Psychopharmacol Bull. 1978; 14: 67-8.
14. Shulz DE, Sosnik R, Ego V, Haidarliu S, Ahissar E. A neuronal analogue of state-dependent learning. Nature 2000; 403: 549-53.
15. Nasehi M, Piri M, Jamali-Raeufy N, Zarrindast MR. Influence of intracerebral administration of agents in dorsal hippocampus (CA1) on cannabinoid state-dependent memory in the step-down passive avoidance test. Physiol Behav 2010; 100: 297-304.
16. Zarrindast MR, Madadi F, Ahmadi S. Repeated administrations of dopamine receptor agents affect lithium-induced state-dependent learning in mice. J Psychopharmacol 2008; 23: 645-651.
17. Zarrindast MR, Fazli-Tabaei S, Khalilzadeh A, Farahmanfar M, Yahyavi SH. Cross state-dependent retrieval between histamine and lithium. Physiol Behav 2005; 86: 154-63.
18. Ledent C, Valverde O, Cossu G, Petitet F, Aubert JF, Beslot F, and et al. Unresponsiveness to cannabinoids and reduced addictive effects of opiates in CB1 receptor knockout mice. Science 1999; 283: 401-4.
19. Pierce RC, Kumaresan V. The mesolimbic dopamine system: the final common pathway for the reinforcing effect of drugs of abuse? Neurosci Biobehav Rev 2006; 30: 215-38.
20. Pugh G Jr, Smith PB, Dombrowski DS, Welch SP. 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 1996; 279: 608-16.
21. Skinner TC, John M, Hampson SE. Social support and personal models of diabetes as predictors of self-care and well-being: a longitudinal study of adolescents with diabetes. J Pediatr Psychol 2000; 25: 257-67.
22. Rodriguez JJ, Mackie K, Pickel VM. Ultrastructural localization of the CB1 cannabinoid receptor in mu-opioid receptor patches of the rat Caudate putamen nucleus. J Neurosci 2001; 21: 823-33.
23. Salio C, Fischer J, Franzoni MF, Mackie K, Kaneko T, Conrath M. CB1-cannabinoid and mu-opioid receptor co-localization on postsynaptic target in the rat dorsal horn. Neuroreport. 2001; 12: 3689-92.
24. Maldonado R, Valverde O, Berrendero F. Involvement of the endocannabinoid system in drug addiction. Trends Neurosci 2006; 29: 225-32.
25. Rezayof A, Sardari M, Zarrindast MR, Nayer-Nouri T. Functional interaction between morphine and central amygdala cannabinoid CB1 receptors in the acquisition and expression of conditioned place preference. Behav Brain Res 2011; 220: 1-8.
26. Zarrindast MR, Nouri M, Ahmadi S. Cannabinoid CB1 receptors of the dorsal hippocampus are important for induction of conditioned place preference (CPP) but do not change morphine CPP. Brain Res 2007; 1163: 130-7.
27. Zarrindast MR, Navaeian M, Nasehi M. Influence of three-day morphine-treatment upon impairment of memory consolidation induced by cannabinoid infused into the dorsal hippocampus in rats. Neurosci Res 2010; 69: 51-9.
28. Zarrindast MR, Nasehi M, Piri M, Bina P. Anxiety-like behavior induced by histaminergic agents can be prevented by cannabinoidergic WIN55,212-2 injected into the dorsal hippocampus in mice. Pharmacol Biochem Behav. 2010; 94: 387-96.

29. Kameyama T, Nabeshima T, Kozawa T. Step-down-type passive avoidance- and escape-learning method. Suitability for experimental amnesia models. J Pharmacol Methods 1986; 16: 39-52.
30. Izquierdo I, McGaugh JL. Behavioural pharmacology and its contribution to the molecular basis of memory consolidation. Behav Pharmacol 2000; 11: 517-34.
31. Zarrindast MR, Rezayof A. Morphine state-dependent learning: sensitization and interactions with dopamine receptors. Eur J Pharmacol 2004; 497: 197-204.
32. Khajehpour L, Rezayof A, Zarrindast MR. Involvement of dorsal hippocampal nicotinic receptors in the effect of morphine on memory retrieval in passive avoidance task. Eur J Pharmacol 2008; 584: 343-51.
33. Colpaert FC, Koek W, Bruins Slot LA. Evidence that mnesic states govern normal and disordered memory. Behav Pharmacol 2001; 12: 575-89.
34. Ahmadi S, Zarrindast MR, Nouri M, Haeri-Rohani A, Rezayof A. N-Methyl-D-aspartate receptors in the ventral tegmental area are involved in retrieval of inhibitory avoidance memory by nicotine. Neurobiol Learn Mem 2007; 88: 352-8.
35. Ahmadi S, Zarrindast MR, Haeri-Rohani A, Rezayof A, Nouri M. Nicotine improves morphine-induced impairment of memory: possible involvement of N-methyl-D-aspartate receptors in the nucleus accumbens. Dev Neurobiol 2007; 67: 1118-27.
36. Leow KP, Smith MT. The antinociceptive potencies of oxycodone, noroxycodone and morphine after intracerebroventricular administration to rats. Life Sci 1994; 54: 1229-36.
37. Welch SP, Stevens DL. Antinociceptive activity of intrathecally administered cannabinoids alone, and in combination with morphine, in mice. J Pharmacol Exp Ther 1992; 262: 10-8.
38. Vela G, Ruiz-Gayo M, Fuentes JA. Anandamide decreases naloxone-precipitated withdrawal signs in mice chronically treated with morphine. Neuropharmacology 1995; 34: 665-8.