مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان / تابستان ۱۳۹۰ / دوره ۱۳ / شماره ۲ (پی در پی ۳۸) / صفحات ۹ تا ۱۵

Archive of SID

تحقیقی

اثر عصاره الکلی دانه گیاه کانابیس‌ساتیوا *(Cannabis sativa)* بر دانسیته نورونی هیپوکامپ موش

دکتر مریم طهرانی‌پور*[۱]، منصوره سبزعلی‌زاده[۲]

۱- دکتری فیزیولوژی جانوری، استادیار گروه زیست شناسی ، دانشگاه آزاد اسلامی ، واحد مشهد.

۲- کارشناس ارشد زیست شناسی علوم جانوری، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد.

چکیده

زمینه و هدف : *حافظه یک توانایی ویژه ذهن است که توسط آن اطلاعات ذخیره و بازیابی می‌شوند. حافظه وابسته به مراکز عصبی متعددی مانند آمیگدال و هیپو کامپ است. تراکم نورونی این مناطق اثر شدیدی در عملکرد فیزیولوژیک آنها دارد. گیاه کانابیس‌ساتیوا گیاهی از خانواده Cannabinaceae است که مؤثرترین ماده این گیاه تتراهیدرو کانابینول (THC) است. این مطالعه به منظور تعیین اثر عصاره الکلی دانه گیاه کانابیس‌ساتیوا بر دانسیته نورونی هیپوکامپ موش آزمایشگاهی انجام شد.*

روش بررسی : *این مطالعه تجربی روی ۱۸ سر رت نر نژاد ویستار با سن تقریبی سه ماهه و وزن ۲۶۰-۳۲۰ گرم در گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد طی سال‌های ۸۹-۱۳۸۸ انجام شد. در ابتدا از دانه گیاه کانابیس‌ساتیوا با کد هرباریوم ۲۵٤۸توسط روش سوکسله عصاره الکلی تهیه شد. سپس موش‌ها به طور تصادفی به سه گروه شش‌تایی کنترل، تیمار با عصاره دوز ۲۵میلی‌گرم بر کیلوگرم و تیمار با عصاره ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تقسیم شدند. در گروه‌های تیمار عصاره در دو نوبت هر هفته یک‌بار به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد.پس از گذشت ٤ هفته حیوانات بیهوش و مغز از جمجمه به آرامی خارج گردید. پس از مراحل پاساژ بافتی برش‌های سریال ۷ میکرونی با رنگ آبی تولوئیدین رنگ‌آمیزی شدند. سپس از مناطق مختلف هیپوکامپ عکسبرداری شد و توسط روش‌های استریولوژی و روش سیستماتیک رندوم دانسیته نورونی مناطق مختلف هیپوکامپ در گروه‌های مختلف ارزیابی و با گروه کنترل مقایسه شد.*

یافته‌ها : *نتایج نشان داد که در تمام مناطق CA1 ، CA2 و CA3 هیپوکامپ در دو گروه تیمار شده (۷۵ mg/kg و ۲۵) دانسیته نورونی نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۱). به طوری که دانسیته نورونی در منطقه CA1 در گروه‌های کنترل ، تیمار ۲۵میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و ۷۵میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ۱۷۹۸۲ ، ۲٦۷۵۰ و ۲۲۸۰۱ ؛ در CA2 ۱۹۱۷۱ ، ۲۶۳۸۲ و ۲۳۷۰۱ ؛ در CA3 ۱۹۳۹۱، ۲۸۵۷۱ و ۲۴۰۴۳ تعیین شد.*

نتیجه‌گیری : *این مطالعه نشان داد که عصاره الکلی گیاه کانابیس‌ساتیوا باعث افزایش دانسیته نورون‌های هیپوکامپ موش آزمایشگاهی می‌گردد و این افزایش وابسته به میزان عصاره دریافتی نبود.*

کلید واژه‌ها : *کانابیس‌ساتیوا ، عصاره الکلی، هیپوکامپ ، نوروژنز*

* نویسنده مسؤول : دکتر مریم طهرانی پور ، پست الکترونیکی maryam_tehranipour@mshdiau.ac.ir

نشانی : مشهد ، خیابان راهنمایی ، دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد ، گروه زیست شناسی ، تلفن ۸۴۳۵۰۵۰ -۰۵۱۱ ، نمابر ۸۴۳۵۰۵۰

وصول مقاله : ۱۳۸۹/۳/۲۲ ، اصلاح نهایی : ۱۳۸۹/۷/۱۳ ، پذیرش مقاله : ۱۳۸۹/۸/۲۵

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

یادگیری روندی است که توسط آن در مورد دنیای پیرامون خود اطلاعاتی به‌دست می‌آوریم. در حالی که حافظه روندی است که توسط آن اطلاعات ذخیره و بازیابی می‌شوند (۱). در واقع حافظه‌ها در سیناپس‌ها ذخیره می‌شوند (۲). تغییر تعداد سلول‌های عصبی و سیناپس‌های آن عامل مؤثری بر افزایش یا کاهش حافظه می‌باشد. حافظه و یادگیری وابسته به مراکز عصبی متعددی می‌باشد (۳). از جمله مناطق درگیر در حافظه (آمیگدال، لب فرونتال، لب تمپورال، نئوکورتکس، تالاموس، مخچه و هیپوکامپ) می‌باشد (۶-۴). کاهش حجم هیپوکامپ اختلالاتی را در حافظه و یادگیری ایجاد می‌نماید (۸-۴). یکی از دلایل تغییر حجم هیپوکامپ تغییر در تعداد نورون‌های آن است. چنانچه به طور مشابه در بیماری آلزایمر کاهش تعداد نورون‌ها مشاهده می‌شود و پیامد آن فراموشی و کاهش حافظه است. هیپوکامپ بخشی از سیستم لیمبیک بوده که به علت ساختار نعل اسبی شکل آن به این نام نامیده شده است. هیپوکامپ دارای بخش‌های CA1، CA2 و CA3، سوبیکولوم و شکنج دندانه‌ای است که ارتباطات متعدد اما به‌طور عمده غیرمستقیم با بیشتر بخش‌های قشر مغز و نیز با تشکیلات قاعده‌ای سیستم لیمبیک یعنی آمیگدال، هیپوتالاموس، سپتوم و اجسام پستانی دارد. تقریباً هرگونه تجربه حسی باعث فعال شدن قسمت‌های مختلف هیپوکامپ می‌گردد (۴و۷).

گیاه *Cannabis sativa* گیاهی از طبقه گلداران از خانواده Cannabinaceae است. بیش از ۴۵۰۰ سال از کشت این گیاه می‌گذرد و هنوز کشاورزان از قسمت‌های مختلف این گیاه برای مصارف دارویی بهره می‌جویند. محبوبیت این گیاه زمانی آغاز شد که اثرات این گیاه روی مغز و سیستم عصبی شناخته شد. تاثیر کانابیس ساتیوا بر عملکرد ذهنی مغز یکی از موضوعات پرمناقشه مطرح است (۸و۹).

اکثر دانشمندان بر این موضوع که نوسانات دوپامینرژیک سیستم عصبی در کورتکس قدامی برای عملکرد حافظه کارکردی ضروری است؛ اتفاق نظر دارند (۱۵-۱۰).

حافظه کارکردی نه‌تنها وقتی سطح دوپامین کورتکس قدامی با فعالیت گیرنده‌های دوپامین D1 پایین‌تر از سطح طبیعی است؛ تخریب می‌شود (۱۲)؛ بلکه وقتی سطح دوپامین بالاتر از سطح طبیعی آن نیز قرار گیرد؛ این تخریب رخ می‌دهد (۱۳). برطبق این نظریه مطالعات زیادی روی موش‌های آزمایشگاهی و میمون‌ها صورت گرفت که نشان داد؛ می‌توان از تخریب حافظه با غلبه بر استرس و افزایش فعالیت گیرنده‌های دوپامینی جلوگیری نمود (۱۴).

مطالعات رفتاری زیادی نشان داده است که کانابیس ساتیوا باعث افزایش حافظه کوتاه‌مدت می‌گردد (۱۵). همچنین در تحقیقی، افزایش فعالیت در ۶۰درصد اعصاب مورد مطالعه در اثر مصرف کانابینوئیدها مشاهده شد (۱۶).

تحقیقات کانابینوئیدی در رابطه با نوروتوکسیتی یک دامنه بسیار شگفت‌آوری را ایجاد می‌کند. کانابینوئیدها ممکن است بتوانند نورون‌ها را از طریق رسپتورهای کانابینوئیدی در مقابل سمیت عصبی محافظت نمایند (۱۷و۱۸). از طرفی در معرض قرار گرفتن دود ماری‌جوانا سبب تضعیف حافظه در رت‌ها شده است (۱۹). مطالعه‌ای دیگر نشان داد که کانابینوئیدها سبب محدودیت در یادگیری و حافظه می‌گردد (۲۰). اندوکانابینوئیدها بر آگاهی و شناخت انسان تاثیر می‌گذارد که این تاثیرات به طور عمده به تخریب حافظه کوتاه‌مدت مرتبط است و سبب از بین رفتن اطلاعات می‌شود (۲۱و۲۲).

تثبیت، ذخیره و رمزگذاری نابجا در حافظه و عدم عملکرد دقیق حافظه دراز مدت در مصرف کنندگانی که این گیاه را در طولانی مدت استفاده کرده‌اند؛ گزارش شده است (۲۳). تحقیقات دیگری نشان داد که کانابیس ساتیوا می‌تواند از مرگ سلول‌های عصبی ناحیه هیپوکامپ مغز جلوگیری کند و همچنین سلول‌های تخریب شده را بازسازی نماید (۲۴). باتوجه به گزارش‌های متناقض در ارتباط با اثرات گیاه کانابیس ساتیوا بر حافظه و عملکرد هیپوکامپ؛ این مطالعه به منظور تعیین اثر عصاره الکلی دانه گیاه کانابیس‌ساتیوا بر دانسیته نورونی مناطق مختلف هیپوکامپ موش آزمایشگاهی انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۱۸ سر رت نر نژاد ویستار با سن تقریبی سه ماهه و وزن ۲۶۰-۳۲۰ گرم در گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد طی سال‌های

www.SID.ir

Archive of SID

۸۹-۱۳۸۸ انجام شد.

رت‌های خریداری شده از مؤسسه سرم‌سازی رازی در حیوانخانه گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد تا زمان انجام آزمایش نگهداری شدند. شرایط نگهداری با حرارت ۲۱ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۰درصد و سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی بود. همگی رت‌ها امکان دسترسی به آب و غذای کافی داشتند.

بذر گیاه کانابیس‌ساتیوا (*Cannabis sativa*) با کد هرباریومی ۲۵۴۸ از مرکز هرباریوم دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد تهیه شد. بذرها توسط دستگاه خرد کننده کاملاً آسیاب گردید و پودر آن تا زمان عصاره‌گیری در جای خشک و خنک نگهداری شد.

عصاره‌گیری به روش سوکسله انجام شد. به طوری که ۵۰گرم پودر بذر آسیاب شده گیاه کانابیس‌ساتیوا همراه ۳۰۰میلی‌لیتر الکل اتانول در حرارت ۶۰-۴۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۶ ساعت در دستگاه سوکسله به منظور عصاره‌گیری قرار داده شد. سپس عصاره به دست آمده در داخل دستگاه انکوباتور با حرارت ۴۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۸ ساعت قرار گرفت تا حلال حذف گردد (۲۵). عصاره الکلی به‌دست آمده فاقد الکل و ماده‌ای سبزرنگ و چسبنده با بازده ۵/۸گرم بود.

در تمام طول آزمایش پروتکل اخلاقی کار با حیوانات رعایت شد تا کمترین درد یا زجری متحمل نشوند.

در زمان آزمایش حیوانات به طور تصادفی به سه گروه شش‌تایی کنترل، گروه تیمار با دوز ۲۵میلی‌گرم بر کیلوگرم و گروه تیمار با دوز ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم تقسیم شدند. در عصاره در گروه‌های تیمار طی دوهفته (هفته‌ای یک‌بار) به صورت داخل صفاقی به رت‌ها تزریق شد و به گروه کنترل نیز در همان زمان‌ها به‌جای عصاره، سرم فیزیولوژی تزریق گردید. دوزها و مدت تزریق دارو انتخابی به صورت تجربی و با مطالعات پایلوت به‌دست آورده شدند. زیرا کار مشابهی در این زمینه انجام نشده بود. پس از گذشت چهارهفته از شروع آزمایش رت‌ها با تزریق داخل صفاقی مخلوط رامپون و کتامین (۶۰ و ۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش گردیدند (۲۵).

برای نفوذ بهتر فیکساتور به مغز قبل از تشریح به کمک متد پرفیوژن تا حدی بافت‌های بدن فیکس شدند. پس از اتمام پرفیوژن مغز به آرامی از جمجمه خارج شد و در فرمالین نمکی ۱۰درصد قرار داده شد. پس از مراحل پاساژ بافتی از مغزها برش‌های ساژیتال سریال ۷میکرونی تهیه شد و با رنگ آبی تولوئیدین رنگ‌آمیزی شدند (۲۵). ناحیه هیپوکامپ و مناطق CA1، CA2 و CA3 شناسایی شد (۲۶). در حدود ۶۰برش شمارش انجام شد. از دو برش متوالی عکس‌های جداگانه تهیه شد و با حفظ شماره و ترتیب برای مطالعات بعدی قرار داده شدند. بزرگ‌نمایی میکروسکوپ در این مرحله ۲۰۰=۴×۱۰×۵ بود. برای شمارش نورونی از روش نمونه‌برداری تصادفی استفاده شد و برای شمارش ذرات یعنی نورون‌ها از روش دایسکتور استفاده گردید.

برای آنالیز داده‌های خام نیاز به متغیرهایی مانند ∑Q، ∑frame، میانگین، Vdisector و... است که این متغیرها چنین تعریف می‌شوند:

∑Q: مجموع نورون‌های شمارش شده در یک نمونه

∑frame: مجموع دفعات نمونه‌برداری شده

Vdisector: حجم چهارچوب نمونه‌برداری که برابر است با: A frame×H =Vdisector

A frame: مساحت چهارچوب نمونه‌برداری

H: فاصله بین دو برش یا ضخامت هر برش

$\frac{\sum Q}{\sum frame}$ حاصل تقسیم مجموع نورون‌های شمارش شده در یک نمونه بر مجموع دفعات نمونه برداری

برای بررسی داده‌ها با استفاده از آزمون‌های آماری نیاز به متغیر دیگری به‌نام NV(Numerical density) یا دانسیته تعداد است. این متغیر از فرمول زیر محاسبه گردید (۲۵).

$$NV= \frac{\sum Q}{\sum frame \times Vdisector}$$

برای به‌دست آوردن اندازه واقعی مساحت دایسکتور بر روی نمونه با مقیاس میکرون از لام میکرومتری استفاده شد.

توزیع داده‌ها نرمال بود و برای مقایسه از آزمون آماری ANOVA با سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ استفاده شد.

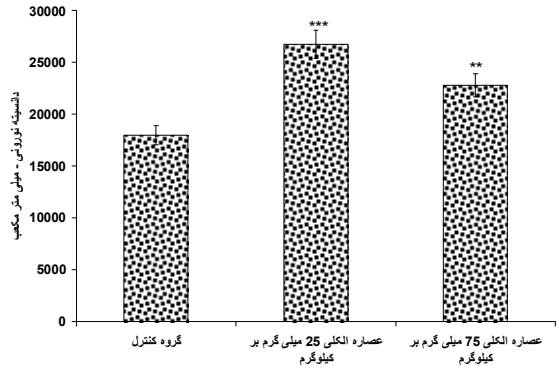
www.SID.ir

یافته‌ها

نتایج حاصل از بررسی اثر عصاره الکلی دانه گیاه کانابیس‌ساتیوا بر دانسیته نورونی مناطق مختلف هیپوکامپ در گروه‌های تیمار شده با عصاره و گروه کنترل به صورت شمارش نورون‌ها در جدول یک آمده است.

جدول ۱ : مقایسه میانگین و انحراف معیار دانسیته نورونی (میلی‌متر مکعب) در مناطق مختلف هیپوکامپ

	کنترل	تیمار با عصاره ۲۵میلی‌گرم بر کیلوگرم	تیمار با عصاره ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم
CA1	۱۷۹۸۲±۵۹۹	۲۶۷۵۰±۴۹۷	۲۲۸۰۱±۴۶۴
CA2	۱۹۱۷۱±۱۳۰۱	۲۶۳۸۲±۴۳۹	۲۳۷۰۱±۷۱۰
CA3	۱۹۳۹۱±۹۵۷	۲۸۵۷۱±۱۰۳۶	۲۴۰۴۳±۸۳۳



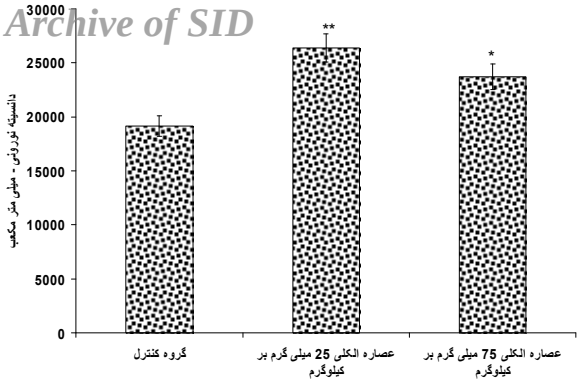
نمودار ۱ : مقایسه دانسیته تعداد نورون‌های ناحیه CA1 در گروه‌های تیمار شده با عصاره الکلی دانه گیاه کانابیس ساتیوا با دوزهای ۲۵ و ۷۵ میلی‌گرم‌برکیلوگرم با گروه کنترل (n=6)

در گروه تیمار با عصاره دوز ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بین دانسیته نورونی منطقه CA1 (P<۰/۰۰۱)، CA2 (P<۰/۰۱) و CA3 (P<۰/۰۱) در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری مشاهده می‌شود. همچنین در گروه تیمار با عصاره دوز ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بین دانسیته نورونی منطقه CA1 (P<۰/۰۱)، CA2 (P<۰/۰۵) و CA3 (P<۰/۰۵) در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری مشاهده شد(نمودارهای ۳-۱).

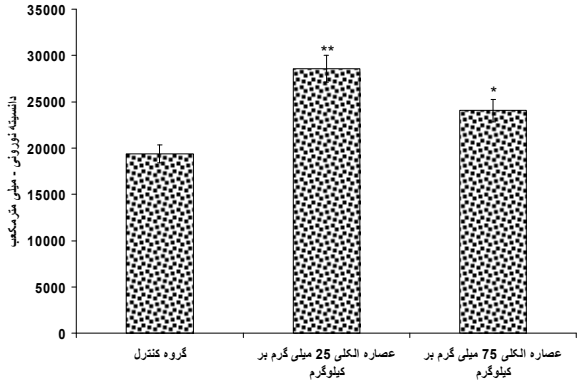
اثر عصاره الکلی دانه گیاه کانابیس ساتیوا بر دانسیته تعداد نورون‌های مناطق سه‌گانه هیپوکامپ سبب افزایش تعداد نورون‌ها در مناطق CA1 ، CA2 و CA3 هیپوکامپ در گروه‌های تیمار شده با عصاره گردید.

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۲ : مقایسه دانسیته تعداد نورون‌های ناحیه CA2 در گروه‌های تیمار شده با عصاره الکلی دانه گیاه کانابیس ساتیوا با دوزهای ۲۵ و ۷۵ میلی‌گرم‌برکیلوگرم با گروه کنترل (n=6)



نمودار ۳ : مقایسه دانسیته تعداد نورون‌های ناحیه CA3 در گروه‌های تیمار شده با عصاره الکلی دانه گیاه کانابیس ساتیوا با دوزهای ۲۵ و ۷۵ میلی‌گرم‌برکیلوگرم با گروه کنترل (n=6)

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که در گروه‌های تیمار با دوزهای ۲۵و۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره الکلی گیاه کانابیس ساتیوا و تکرار دوبار در دوهفته، دانسیته نورونی در مناطق مختلف هیپوکامپ نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت. اگرچه در هر دو گروه تیمار با عصاره دانسیته نورونی افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل مشاهده شد؛ ولی این اختلاف در دوز ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره بیشتر بود.

مطالعات متعددی که روی عصاره این گیاه انجام شده؛ مؤید اثرات وابسته به دوز آن می‌باشد. به طوری که در دوز پایین‌تر دارای اثر بیشتری بر دانسیته نورونی مناطق مختلف هیپوکامپ است (۸).

بررسی پدیده مرگ یاخته‌های عصبی طی تکامل طبیعی، بیماری‌ها و آسیب‌های بافتی تاریخچه‌ای نسبتاً طولانی دارد. از

Archive of SID

آنجایی که سلول‌های عصبی به سختی تجدید می‌شوند؛ مرگ این سلول‌ها سبب بروز مشکلات زیادی در سیستم عصبی مرکزی و محیطی می‌گردد. بسیاری از این ناهنجاری‌ها سبب عملکرد نامناسب دستگاه‌های بدن می‌شود. فراموشی و یا به‌یادنیاوردن خاطرات از جمله مشکلاتی است که همواره بشر با آن در جدال بوده است (۲۰). در قرن ۱۹ میلادی از کانابیس به عنوان ضددرد، ضدتشنج و خواب‌آور استفاده می‌گردید. علاوه بر این هیپوکامپ دارای گیرنده‌های کانابینوئیدی فراوانی است و ۹Δتتراهیدروکانابینول از طریق این گیرنده‌ها عملکرد خود را بر مغز ایفاء می‌کند (۸).

کانابینوئیدهای آندوژن از قبیل آناندامید و آراشیدونیل گلیسرول از طریق تاثیر بر رسپتورهای CB1 و CB2 نقش مهمی را بر فرایندهای فیزیولوژیکی بدن ایفاء می‌کنند (۲۷و۲۸). این رسپتورها در مناطق مختلف هیپوکامپ دارای گسترش نسبی می‌باشند. لذا این مواد بر فرایندهای فیزیولوژیکی مرتبط با حافظه نقش به‌سزایی دارند. احتمالاً عصاره تزریق شده این گیاه به رت‌های مورد آزمایش نیز از طریق اثر بر رسپتورهای کانابینوئیدی هیپوکامپ باعث افزایش دانسیته نورونی مناطق مختلف آن شده است. به‌نظر می‌رسد که دوز ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم با مکانیسمی شبیه با کانابینوئیدهای طبیعی بدن باعث افزایش دانسیته نورونی شده است. تغییر تعداد نورون‌ها مستقیماً فرایندهای فیزیولوژیک بدن را تحت تاثیر قرار می‌دهد.

در سال ۲۰۰۸ Solowij و Battisti به تاثیرات مزمن شاهدانه بر حافظه پرداختند و عوامل اثرگذار شاهدانه بر حافظه شناسایی شد که از جمله مدت زمان مصرف، میزان مصرف، ضریب هوشی و جنسیت بود. آنان نشان دادند که گیاه شاهدانه اثرات وابسته به دوز دارد (۲۳). نتایج مطالعات در شرایط In vitro و In vivo در حیوانات اثبات نمود که سیستم اندوکانابینوئیدی سلول‌ها را در برابر عوامل پاتوژنیک ایسکمی محافظت می‌کند. در نهایت گزارش شد که سیگنال‌های درون‌سلولی این مکانیسم‌های نوروپروتکتیوی را تنظیم می‌کنند (۲۹). چنانچه با نتایج حاصل از تحقیق ما همسویی دارد. در مطالعه حاضر تزریق عصاره الکلی دانه گیاه کانابیس ساتیوا در نواحی مختلف هیپوکامپ با دوز ۲۵ و ۷۵میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث افزایش دانسیته نورونی در این نواحی گردید.

عامل نوروتروفیک مشتق شده مغزی یک کلید میانجی در ترمیم است که وابسته به رسپتورهای کانابینوئیدی است (۳۰). بنابراین فعال شدن این رسپتورها تحت تاثیر استفاده از عصاره گیاه کانابیس باعث راه‌اندازی عملکردهای فیزیولوژیک عوامل نوروتروفیک شده که می‌توانند رشد و تمایز نورون‌ها را القاء نموده و سرعت ترمیم آنها را افزایش دهد و از طرفی سرعت دژنراسیون یا مرگ سلولی را بکاهد.

در مطالعه ما افزایش تعداد نورون‌ها در مناطق مختلف هیپوکامپ در گروه‌های تیمار شده با دوز ۲۵ و ۷۵میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره مشاهده گردید. احتمالاً این عصاره باعث القاء نوعی نوروژنز در هیپوکامپ می‌گردد.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که در گروه‌های تیمار شده با عصاره الکلی گیاه کانابیس ساتیوا با دوزهای ۲۵ و ۷۵میلی‌گرم برکیلوگرم در تمام مناطق هیپوکامپ CA1، CA2 و CA3 دانسیته نورونی نسبت به گروه کنترل افزایش یافت.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه برای اخذ درجه کارشناسی ارشد بود. بدین‌وسیله از همه همکاران گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مدیریت گروه سرکار خانم هما محمودزاده و ریاست محترم دانشکده علوم آقای دکتر محمد مومن هروی به خاطر همکاری‌های بی‌دریغشان تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Kande ER, Schwartz JH, Jessel TM. Principlels of neural science. 1st. New York: McGraw-Hill. 2000; pp:1010-35.

2. Montgomery JM, Selcher JC, Hanson JE, Madison DV. Dynamin-dependent NMDAR endocytosis during LTD and its dependence on synaptic state. BMC Neurosci. 2005;6:48.

3. Breivogel CS, Sim-Selley LJ. Basic neuroanatomy and neuropharmacology of cannabinoids. Int Rev Psychiatry. 2009 Apr;21(2):113-21.

4. Guyton AC, Hall JE. Textbook of Medical physiology. 3rd. Philadelphia: Saunders. 2006; pp:643-5.

5. Robbins TW, Ersche KD, Everitt BJ. Drug addiction and the

www.SID.ir

Archive of SID

memory systems of the brain. Ann N Y Acad Sci. 2008 Oct;1141:1-21.

6. Ying SW, Futter M, Rosenblum K, Webber MJ, Hunt SP, Bliss TV, Bramham CR. Brain-derived neurotrophic factor induces long-term potentiation in intact adult hippocampus: requirement for ERK activation coupled to CREB and upregulation of Arc synthesis. J Neurosci. 2002 Mar 1;22(5):1532-40.

7. Gorden MS. Neurobiology. 3rd. New York: Oxford University Press. 2000; pp: 34-618.

8. Barinaga M. Neurobiology. How cannabinoids work in the brain. Science. 2001 Mar 30;291(5513):2530-1.

9. Breivogel CS, Sim-Selley LJ. Basic neuroanatomy and neuropharmacology of cannabinoids. Int Rev Psychiatry. 2009 Apr;21(2):113-21.

10. Brodkin J, Moerschbaecher JM. SR141716A antagonizes the disruptive effects of cannabinoid ligands on learning in rats. J Pharmacol Exp Ther. 1997 Sep;282(3):1526-32.

11. Stella N, Schweitzer P, Piomelli D. A second endogenous cannabinoid that modulates long-term potentiation. Nature. 1997 Aug 21;388(6644):773-8.

12. Carta G, Gessa GL, Nava F. Dopamine D2 receptor antagonists prevent Δ9-tetrahydrocannabinol-induced antinociception in rats. European Journal of Pharmacology. 1999 Nov; 384(2-3): 153-6.

13. Lichtman AH, Martin BR. Δ9-Tetrahydrocannabinol impairs spatial memory through a cannabinoid receptor mechanism. Psychopharmacologia. 1996; 126(2): 125-31.

14. Jentsch JD, Andrusiak E, Tran A, Bowers MB Jr, Roth RH. Delta 9-tetrahydrocannabinol increases prefrontal cortical catecholaminergic utilization and impairs spatial working memory in the rat: blockade of dopaminergic effects with HA966. Neuropsychopharmacology. 1997 Jun;16(6):426-32.

15. Hampson RE, Deadwyler SA. Cannabinoids reveal the necessity of hippocampal neural encoding for short-term memory in rats. J Neurosci. 2000 Dec 1;20(23):8932-42.

16. Xue BG, Belluzzi JD, Stein L. In vitro reinforcement of hippocampal bursting by the cannabinoid receptor agonist (-)-CP-55,940. Brain Res. 1993 Oct 29;626(1-2):272-7.

17. McAllistera SD, Glass M. CB1 and CB2 receptor-mediated signalling: a focus on endocannabinoids. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids. 2002 Feb; 66(2-3): 161-71.

18. Hampson RE, Simeral JD, Kelly EJ, Deadwyler SA. Tolerance to the memory disruptive effects of cannabinoids involves adaptation by hippocampal neurons. Hippocampus. 2003;13(5):543-56.

19. Niyuhire F, Varvel SA, Martin BR, Lichtman AH. Exposure to marijuana smoke impairs memory retrieval in mice. J Pharmacol Exp Ther. 2007 Sep;322(3):1067-75.

20. Berman DE, Dudai Y. Memory extinction, learning anew, and learning the new: dissociations in the molecular machinery of learning in cortex. Science. 2001 Mar; 291(5512): 2417-9.

21. Reich CG, Mohammadi MH, Alger BE. Endocannabinoid modulation of fear responses: learning and state-dependent performance effects. J Psychopharmacol. 2008 Sep;22(7):769-77.

22. Kosiorek P, Hryniewicz A, Bialuk I, Zawadzka A, Winnicka MM. Cannabinoids alter recognition memory in rats. Pol J Pharmacol. 2003;55(5):903-10.

23. Solowij N, Battisti R. The chronic effects of cannabis on memory in humans: a review. Curr Drug Abuse Rev. 2008 Jan;1(1):81-98.

24. Veldhuis WB, van der Stelt M, Wadman MW, van Zadelhoff G, Maccarrone M, Fezza F, et al. Neuroprotection by the endogenous cannabinoid anandamide and arvanil against in vivo excitotoxicity in the rat: role of vanilloid receptors and lipoxygenases. J Neurosci. 2003 May 15;23(10):4127-33.

25. Behnam-rasouli M, Nikravesh M, Mahdavi N, Tehranipour M. Post-Operative time effects after sciatic nerve crush on the number of alpha motoneurons, using a stereological counting method (disector). Iranian Biomedical Journal. 2000;4(1): 45-9.

26. Smith DG, Schenk MP. Dissection Guide & Atlas to the Rat. 1st. Englewood, Colo: Morton Company. 2001; pp: 215-7.

27. Howlett AC. Efficacy in CB1 receptor-mediated signal transduction. Br J Pharmacol. 2004 Aug;142(8):1209-18.

28. Andersen P, Morris R, Amaral D, Bliss T, O'keefe J. The Hippocampus Book. 1st. New York: Oxford University Press. 2007; pp:328-30.

29. Khaspekov LG, Bobrov Myu. The endocannabinoid system and its protective role in ischemic and cytotoxic injuries of brain neurons. Neurochemical Journal. 2007;1(2): 93-112.

30. Arnaiz SL, D'Amico G, Paglia N, Arismendi M, Basso N, del Rosario Lores Arnaiz M. Enriched environment, nitric oxide production and synaptic plasticity prevent the aging-dependent impairment of spatial cognition (Review). Mol Aspects Med. 2004; 25:91-101.

www.SID.ir

Archive of SID

Original Paper

Effect of *Cannabis sativa* alcoholic extract on hippocampus neuronal density in Rats

Tehranipour M (PhD)*[1], Sabzalizade M (MSc)[2]

[1]Assistant Professor, Department of Biology, Islamic Azad University, Mashhad Branch, Mashhad, Iran.
[2]MSc in Animal Biology, Department of Biology, Islamic Azad University, Mashhad Branch, Mashhad, Iran.

Abstract

Background and Objective: Memory is an especial ability of brain in which saves the information and reuptake it. The memory is depended on hippocampus and amigdal. The neuronal density of hippocampus and amigdal have direct effect on their physiological functions. *Cannabis sativa* is belongs to *Cannabinaceae* family that Tetrahidrocanabinol is important component of this plant. The aim of this study was to assess the effect of alcoholic extract of *Cannabis sativa* on CA1, CA2 and CA3 subfeilds of hippocampus neuronal density in male Rats.

Materials and Methods: This experimental study was performed on 18 male Rats with (250-320gr) weight and 3 month old in faculty of science, Islamic Azad University of Mashhad, Iran (2010-2011). At first the alcoholic extraction was provided by the soxhlet method of the seed of this plant with coded 2548. Eighteen male wistar Rats were allocated into 2 experimental groups (25,75mg/kg of alcoholic extract of *Cannabis sativa*) and one control group. Alcoholic extract of *Cannabis sativa* was injected intraperitonealy (I.P.) in experimental groups for two weeks (every week one injection). After four weeks animal was decapitated and their brain dissected, fixed in 10% formalin, sectioned in 7µm thickness and stained by toluidin blue. By applying stereological techniques and systematic random sampling scheme the neuronal density of hippocampus were estimated.

Results: Neuronal density in control and treated with alcoholic extract (25,75mg\kg) CA1 was 17982, 26750 and 22801 respectively. Neuronal density in CA2 was 19171, 26750 and 22801 respectively and also in CA3 was 19391, 24043, 28571 respectively. Neuronal density in CA1, CA2 and CA3 of hippocampus in treated groups with alcoholic extract (25,75mg\kg) was significantly increased in comparision with controls ($P<0.01$).

Conclusion: This study determined that the alcoholic extract of *Cannabis sativa* can induce hippocampus neurogenesis which is not dose depended.

Keywords: Hippocampus, *Cannabis sativa*, Alcoholic extract, Neurogeneses

*** Corresponding Author: Tehranipour M (PhD), E-mail: maryam_tehranipour@mshdiau.ac.ir**

Received 12 June 2010 **Revised** 5 October 2010 **Accepted** 16 November 2010

www.SID.ir

This paper should be cited as: Tehranipour M, Sabzalizade M. [Effect of *Cannabis sativa* alcoholic extract on hippocampus neuronal density in Rats]. J Gorgan Uni Med Sci. Summer 2010;13(2): 9-15. [Article in Persian]