

# اثر سیستم کانابینویدی ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی بر حافظهٔ موش‌های صحرایی حساس شده با نیکوتین

مرتضی پیری\*

گروه زیست‌شناسی، دانشکدهٔ علوم، واحد

اردبیل، دانشگاه آزاد اسلامی

دکتر محمدرضا زرین‌دست

گروه فارماکولوژی، دانشکدهٔ پزشکی و مرکز ملی

مطالعات اعتیاد، دانشگاه علوم پزشکی تهران

دکتر شهربانو عریان

گروه زیست‌شناسی، دانشکدهٔ علوم، دانشگاه

تربیت معلم تهران

**هدف:** بررسی اثر تزریق دوطرفهٔ آگونیست و آنتاگونیست گیرنده‌های کانابینویدی در هیپوکامپ پشتی (CA1) بر حافظهٔ موش‌های صحرایی حساس شده با نیکوتین. **روش:** روش اجتنابی مهاري (غیرفعال) با مدل step-through برای بررسی حافظه در موش‌های صحرایی نژاد ویستار به کار گرفته شد و حافظهٔ حیوان ۲۴ ساعت بعد از آموزش مورد بررسی قرار گرفت. **یافته‌ها:** نتایج تزریق درون‌مغزی آگونیست گیرنده‌های کانابینویدی ۲-۲۱۲ (۵۵WIN (μg/rat، ۰/۶، ۰/۳) و آنتاگونیست اختصاصی گیرندهٔ CB1 (AM251 (ng/rat، ۶۰، ۳۰) در روز آموزش به تخریب حافظهٔ حیوانات منجر شد. تزریق درون‌مغزی ۲۵۱AM، ۲ دقیقه قبل از تزریق درون‌مغزی ۲-۲۱۲ (۵۵WIN (μg/rat، ۰/۳) اثری بر روی تخریب حافظهٔ ناشی از ۲-۲۱۲ (۵۵WIN (μg/rat، ۰/۳) نداشت. اثر تخریبی ۲-۲۱۲ (۵۵WIN (μg/rat، ۰/۳) و ۲۵۱AM (ng/rat، ۶۰) به دنبال تزریق پنج‌روزهٔ مقدارهای مختلف نیکوتین رفت. **نتیجه‌گیری:** هیپوکامپ پشتی نقش مهمی در فراموشی ناشی از کانابینویدها داشته، تزریق پنج‌روزهٔ نیکوتین ممکن است به حساسیت گیرندهٔ نیکوتینی منجر شده، از این طریق در فراموشی ناشی از داروهای کانابینویدی اثر گذارد.

\* نشانی تماس: اردبیل، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل، دانشکدهٔ علوم، گروه زیست‌شناسی.

Email: biopiri@yahoo.com

**کلیدواژه‌ها:** کانابینویدها، هیپوکامپ پشتی، حساسیت‌زایی، نیکوتین، یادگیری اجتنابی-مهارى، موش صحرایی

## Effects of cannabinoidergic system of CA1 area of dorsal hippocampus on the memory of nicotine sensitized rats

**Objective:** In the present study, the effects of double route administration of cannabinoid agonists and antagonists of dorsal hippocampus (CA1) was investigated on the memory of nicotine-sensitized rats. **Method:** Passive avoidance task with Step-through model was used to evaluate memory in wistar rats, which was assessed 24 hours after training. **Results:** Intracranial administration of WIN55, 212-2 (0.3, 0.6 μg/rat) and CB1 receptor antagonist, AM251 (30, 60 ng/rat, intra-CA1) on training day, led to memory impairment in rats. Intracranial administration of AM251 two minutes before the intracranial injection of WIN55, 212-2 (0.3 μg/rat) could not alter memory impairment induced by WIN55, 212-2 (0.3 μg/rat). The memory destructive effect of WIN55, 212-2 (0.3 μg/rat) and AM251 (60 ng/rat) subsequent to five day administration of different doses of nicotine (0.2, 0.4 and 0.6 mg/kg) ten days before the injection of WIN55, 212-2 or AM251, disappeared completely. **Conclusion:** Dorsal Hippocampus has a crucial role in cannabinoid induced amnesia. Five day administration of nicotine could possibly lead to sensitization of nicotine receptors and therefore effect the amnesia induced by cannabinoid drugs.

**Keywords:** cannabinoids, nicotine, dorsal hippocampus, sensitization, passive avoidance learning.

Morteza Piri\*

Islamic Azad University

Mohammad Reza Zarrindast

Tehran Medical Science

University

Shahrbanoo Oryan

Tarbiat Moalem University

Email: biopiri@yahoo.com

## مقدمه

و استوارت<sup>۱</sup>، ۱۹۹۱؛ رابینسون<sup>۲</sup> و بریج<sup>۳</sup>، ۱۹۹۳). سیستم دوپامینی مزولیمبیک که از ناحیه تکمتموم شکمی شروع شده، به هسته آکومبوس ختم می‌شود در ایجاد حساسیت رفتاری به وسیله نیکوتین نقش اساسی دارد. تخریب هسته آکومبوس یا ناحیه تکمتموم شکمی به وسیله داروی ۶-هیدروکسی دوپامین، باعث مهار اثر نیکوتین بر القای حساسیت رفتاری موش‌های صحرایی می‌شود (کلارک<sup>۴</sup>، فیو<sup>۵</sup>، جاکوبوویچ<sup>۶</sup> و فایبگر<sup>۷</sup>، ۱۹۸۸؛ لویس<sup>۸</sup> و کلارک<sup>۹</sup>، ۱۹۹۸)، همچنین مطالعات نشان می‌دهند که تزریق مستقیم نیکوتین به داخل ناحیه تکمتموم شکمی حساسیت رفتاری ایجاد می‌کند (پنگیس<sup>۱۰</sup>، نیسل<sup>۱۱</sup>، نومیکوس<sup>۱۲</sup>، چرگیوی<sup>۱۳</sup> و سونسون<sup>۱۴</sup>، ۱۹۹۶). حساسیت رفتاری القا شده با نیکوتین با افزایش اثر دوپامین در هسته اکومبوس همراه است (بنویل<sup>۱۵</sup> و بالفور<sup>۱۶</sup>، ۱۹۹۲) و استفاده از آنتاگونیست‌های دوپامین قبل از مصرف نیکوتین، مانع القای حساسیت به وسیله نیکوتین می‌شود (کلارک و همکاران، ۱۹۹۸).

در این مطالعه، اثر تزریق داروهای کانابینویدی بر هیپوکامپ پشتی در موش‌های صحرایی حساس شده با نیکوتین بررسی شد.

## روش

برای انجام آزمایش‌ها از موش صحرایی نر نژاد ویستار (با وزن تقریبی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم) استفاده گردید که از انستیتو پاستور ایران تهیه شده بود. حیوان‌ها را به حیوان‌خانه تحقیقاتی منتقل کرده و در طول آزمایش‌ها آب و غذای کافی در اختیار آنها قرار دادند. دمای حیوان‌خانه بین  $22 \pm 3$  درجه سانتی‌گراد متغیر بود. به موش‌ها یک هفته فرصت داده شد تا خود را با شرایط حیوان‌خانه تطبیق دهند و سپس آنها را جراحی کردند. موش‌ها در گروه‌های هشت‌تایی قرار داده شدند. همه آزمایش‌ها در طول روز انجام می‌شد.

کانابینویدها جزو مواد مقلد حالات روانی هستند که بر گونه‌های مختلف حیوانات تأثیرات گوناگونی دارند. تا کنون دو گیرنده کانابینویدی CB1 و CB2 شناسایی شده‌اند، اغلب گیرنده‌های CB1 در سیستم عصبی مرکزی قرار دارند، اما در بافت‌های محیطی نیز یافت می‌شوند، در حالی که گیرنده‌های CB2 فقط در بافت‌های محیطی قرار دارند (چرسون<sup>۱</sup> و تابیوت<sup>۲</sup>، ۱۹۹۹). گیرنده‌های CB1 جزو گیرنده‌های متابوتروپیک دستگاه عصبی مرکزی هستند که به مقدار زیاد در نواحی ای از مغز که در یادگیری و حافظه نقش دارند (مانند هیپوکامپ، قشر، عقده‌های قاعده‌ای و مخچه) وجود دارند (الحیانی<sup>۳</sup> و دیویس<sup>۴</sup>، ۲۰۰۲). این گیرنده‌ها از طریق پروتئین‌های G با مهار ساخت آدنوزین مونوفسفات حلقوی، کاهش هدایت کلسیم به‌ویژه از طریق کانال‌های کلسیمی نوع N، افزایش هدایت پتاسیم از طریق کانال‌های پتاسیمی و افزایش فعالیت پروتئین کیناز فعال شده با میتوزن<sup>۵</sup> (MAPK) تأثیرات خود را می‌گذارند (ویلسون<sup>۶</sup> و نیکول<sup>۷</sup>، ۲۰۰۲).

کانابینویدها می‌توانند رهایش چندین میانجی عصبی را در قسمت‌های مختلف مغز مهار نمایند (چلیکر<sup>۸</sup> و کاتمن<sup>۹</sup>، ۲۰۰۱) و با اثر بر روی گیرنده‌های کانابینویدی، رهایش میانجی‌های مختلف، مانند گلوتامات، استیل‌کولین، گاما آمینوبوتیریک اسید (گابا)، دوپامین و نوراپی نفرین را در هیپوکامپ کاهش می‌دهند (الحیانی و دیویس، ۲۰۰۲).

مطالعات بالینی و آزمایشگاهی نشان می‌دهند که استیل‌کولین نقش مهمی در یادگیری، حافظه و فرآیند توجه دارد (اوریت<sup>۱۰</sup> و رابینس<sup>۱۱</sup>، ۱۹۹۷؛ سنگر<sup>۱۲</sup> و جولی<sup>۱۳</sup>، ۱۹۹۰). آگونیست گیرنده‌های موسکاربینی کولینرژیک و مهارکننده‌های آنزیم استیل‌کولین استراز که مقدار استیل‌کولین را در فضای سیناپسی افزایش می‌دهند، باعث بهبود حافظه و یادگیری می‌شوند (عیدی، زرین‌دست، عیدی، عریان و پریور، ۲۰۰۳؛ دگروت<sup>۱۴</sup> و پرت<sup>۱۵</sup>، ۲۰۰۱؛ زرین‌دست، بخشا، رستمی و شفقی، ۲۰۰۲)، در حالی که آنتاگونیست گیرنده‌های کولینرژیک، حافظه و یادگیری را تخریب می‌کنند (بکسیوتینی<sup>۱۶</sup>، پاسانی<sup>۱۷</sup>، مانیونی<sup>۱۸</sup> و بلاندینا<sup>۱۹</sup>، ۲۰۰۱؛ زرین‌دست و همکاران، ۲۰۰۲).

نیکوتین شباهت زیادی با داروهای محرک روانی (مانند مرفین، کوکائین و آمفتامین‌ها) دارد. تجویز مکرر نیکوتین و سپس قطع آن به مدت چند روز، مانند سایر داروهای مقلد روانی، باعث افزایش مزمن فعالیت حرکتی و خصوصیات انگیزشی و دیگر پاسخ‌های ناشی از گرفتن داروها می‌شود که این پدیده را حساسیت رفتاری می‌نامند (کالیواس<sup>۲۰</sup>

1- Chaperon	2- Thiebot
3- Al-Hayani	4- Davies
5- mitogen-activated protein kinase	
6- Wilson	7- Nicoll
8- Schlicker	9- Kathmann
10- Everitt	11- Robbins
12- Sanger	13- Joly
14- Degroot	15- Parent
16- Bacciottini	17- Passani
18- Mannaioni	19- Blandina
20- Kalivas	21- Stewart
22- Robinson	23- Berridge
24- Clarke	25- Fu
26- Jakubovic	27- Fibiger
28- Louis	29- Panagis
30- Nisell	31- Nomikos
32- Chergui	33- Svensson
34- Benwell	35- Balfour

دستگاه یادگیری اجتنابی - مهاری (غیرفعال)<sup>۱</sup>، مدل step-through جعبه‌ای است که به وسیله یک دیواره به دو قسمت مساوی (با ابعاد ۲۰×۲۰×۳۰ سانتی متر) تقسیم می‌شود. بین دو قسمت و درون دیواره، یک در کشویی به ابعاد ۷×۹ سانتی متر وجود دارد. این دستگاه دارای دو بخش سفید و سیاه رنگ است که در کف بخش سیاه‌رنگ آن، میله‌های فولادی با فاصله یک سانتی متر قرار دارد. این میله‌ها به دستگاه تحریک کننده متصل می‌باشند و از این طریق به حیوانات آزمایش شوک الکتریکی وارد می‌کنند. آزمایش‌ها در اتاق نسبتاً تاریک انجام گرفت.

داروهای مورد استفاده در این تحقیق عبارت بودند از ۲-۲۱۲، WIN۵۵ و AM۲۵۱ (تاکریس، آمریکا) و نیکوتین (سیگما، آمریکا) که نیکوتین آن زمان کوتاهی قبل از انجام آزمایش‌ها در سرم فیزیولوژی استریل ۰/۹ درصد حل و pH محلول با اضافه کردن سود ۰/۱ نرمال، به ۱ ± ۷/۲ رسانده شد. داروهای ۲-۲۱۲، WIN۵۵ و AM۲۵۱ در محلول حاملی حل شدند که ۹۰ درصد آن سرم فیزیولوژی استریل ۰/۹ درصد و ۱۰ درصد باقی مانده دی‌متیل سولفو کسید<sup>۲</sup> (DMSO) بود که سرانجام به محلول فوق یک قطره روغن توئین ۸۰<sup>۳</sup> اضافه شد.

#### روش جراحی و کانول گذاری در ناحیه هیپوکامپ پستی (CA1)

ابتدا موش‌های صحرایی توسط تزریق کتامین هیدرو کلرید<sup>۴</sup> (۴ mg/kg) و گریزین<sup>۵</sup> (۴ mg/kg) بی‌هوش و سپس در دستگاه استریوتاکی قرار داده شدند. پس از آن، بر اساس اطلس پاکسینوس<sup>۶</sup> و واتسون<sup>۷</sup> (۲۰۰۷) دو کانول راهنما (G۲۲) به صورت دوطرفه، یک میلی متر بالاتر از محل تزریق جاسازی شد. مختصات ناحیه هیپوکامپ پستی (CA1) عبارت بود از: ۳/۲-AP=، ML= ±۲، V=-۳. بعد از قرار دادن کانول‌ها در مختصات مورد نظر، کانول‌های راهنما به وسیله سیمان دندان پزشکی در جای خود محکم شدند. برای جلوگیری از بسته شدن کانول‌های راهنما در طول آزمایش، کانول‌های G۲۷<sup>۸</sup> در داخل آنها قرار داده شد. پس از جراحی و قبل از تزریق درون مغزی دارو، به حیوان فرصت داده شد تا برای رفع استرس و تخریب بافتی احتمالی ناشی از جراحی و بازگشت به حالت عادی، پنج تا هفت روز استراحت کند.

#### آزمون‌های رفتاری

برای بررسی حافظه‌ی موش‌های صحرایی، در دو روز متوالی از روش اجتنابی مهاری استفاده شد. در روز اول یا روز آموزش حیوان‌ها در دستگاه آموزش دیدند و در روز دوم یا روز آزمون میزان حافظه‌ی حیوان‌های آموزش دیده بررسی شد.

در روش اجتنابی مهاری مدل step-through، حیوان به آرامی در بخش روشن دستگاه قرار داده می‌شود و پس از پنج ثانیه با باز شدن در کشویی این امکان را پیدا می‌کند که وارد بخش سیاه دستگاه شود. بلافاصله بعد از ورود حیوان به این قسمت، در کشویی بسته شده، حیوان از دستگاه خارج و به آرامی به قفس بازگردانده می‌شود. (موش‌هایی که در این مرحله، یعنی ورود به بخش تاریک، بیش از ۱۲۰ ثانیه تأخیر داشتند، از آزمایش حذف شدند). این حیوان پس از ۳۰ دقیقه دوباره به بخش سفید دستگاه منتقل و بعد از پنج ثانیه در کشویی باز می‌شد تا حیوان وارد بخش تاریک شود. سپس، در کشویی بسته شده، حیوان به مدت سه ثانیه تحریک الکتریکی با شدت یک میلی آمپر دریافت می‌کرد. ۲۰ ثانیه پس از پایان تحریک، حیوان از دستگاه خارج و به قفس خود منتقل می‌شد. پس از گذشت دو دقیقه، مرحله دوم آموزش روی حیوان شوک گرفته انجام می‌شد. در این مرحله نیز موش مانند دفعات قبل به خانه سفید دستگاه منتقل و در کشویی باز شده و میزان تأخیر ورودش به بخش تاریک دستگاه ثبت می‌گردید. پس از تأخیر ۱۲۰ ثانیه‌ای در ورود به بخش سیاه دستگاه (که به عنوان یادگیری موفق<sup>۹</sup> برای حیوان ثبت می‌شد)، حیوان از دستگاه خارج شده، بلافاصله تزریق پس از آموزش<sup>۱۰</sup> را دریافت می‌کرد. در صورتی که تأخیر حیوان در ورود به بخش تاریک کمتر از ۱۲۰ ثانیه می‌شد، پس از ورود در کشویی پشت سرش بسته شده، حیوان برای بار دوم شوک دریافت می‌کرد. پس از خارج کردن حیوان از دستگاه و سپری شدن دو دقیقه، حافظه‌ی حیوان همانند دوره قبل دوباره امتحان می‌شد. اگر حیوان در یادگیری موفق می‌شد، از دستگاه خارج شده و تزریق بعد از آموزش را دریافت می‌کرد. حداکثر آموزش برای هر موش سه بار در نظر گرفته شده بود.

#### مرحله آزمون یا بررسی حافظه

در جلسه آزمون که ۲۴ ساعت پس از مرحله آموزش برگزار گردید، تحریک الکتریکی اعمال نشد. برای بررسی حافظه، هر موش پس از دریافت تزریق قبل از آزمون، همانند روز اول، در بخش روشن دستگاه قرار گرفت، بعد از پنج ثانیه در کشویی باز و زمان تأخیر حیوان در ورود به بخش تاریک دستگاه به عنوان معیاری برای بررسی میزان حافظه در نظر گرفته شد. بیشترین میزان تأخیر برای ورود به بخش تاریک (که به عنوان حافظه کامل شناخته می‌شد)، ۳۰۰ ثانیه بود.

1- inhibitory (passive) avoidanse apparatus  
2- dimethylsulfoxide  
3- tween 80  
4- ketamine hydrochloride  
5- xylazine  
6- Paxinos  
7- Watson  
9- successful learning  
10- post-training

### تزریق درون‌مغزی دارو

پس از آموزش حامل و سه گروه باقیمانده بلافاصله پس از آموزش مقادیر مختلف AM251 (۹۰، ۳۰ و ۶۰ ng/rat) را به صورت درون‌مغزی (intra-CA1) دریافت کردند. ۲۴ ساعت بعد از آموزش، در روز آزمون میزان حافظهٔ مهارتی اجتنابی گروه‌های مختلف حیوانی مطالعه و اندازه‌گیری شد. ۳- آزمایش سوم: بررسی تأثیر تزریق درون‌مغزی AM251 روی

برای تزریق دارو، پس از برداشتن سیم داخل کانول راهنما، سر سوزن ۲۷G دندانپزشکی که ۱۱ میلی‌متر طول داشت و به کت دان تیوب<sup>۱</sup> نوزاد (شماره ۴) متصل بود، در داخل کانول راهنما ۲۲G قرار داده شد. در هر کانول ۵/۰ میکرولیتر دارو، در مدت ۹۰-۶۰ ثانیه تزریق می‌شد. مجموع حجم تزریق درون مغزی به هر موش یک میکرولیتر بود. در طول تزریق به حیوان اجازه داده می‌شد تا بدون هیچ نوع استرس آزادانه حرکت کند.

در این آزمایش پنج گروه حیوان به کار رفت؛ گروه اول بلافاصله پس از آموزش سالیین و چهار گروه باقیمانده بلافاصله پس از آموزش، سالیین و مقادیر مختلف AM251 (۹۰، ۳۰ و ۶۰ ng/rat) را به صورت درون‌مغزی (intra-CA1) دریافت کردند. دو دقیقه پس از تزریق اول، این چهار گروه مقدار مؤثر WIN55,212 (۲-۲۱۲ μg/rat) را به صورت درون‌مغزی دریافت کردند. ۲۴ ساعت پس از آموزش، در روز آزمون میزان حافظهٔ مهارتی اجتنابی گروه‌های حیوانی مختلف مطالعه و اندازه‌گیری شد.

پس از کشتن حیوان‌ها با کلروفورم، با تزریق رنگ متیلن بلوی یک درصد (۰/۵ μl) به داخل هر دو کانول، مغز از درون مجموعه بیرون آورده و درون فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد. پس از یک هفته با استفاده از تیغ جراحی، در محل ورود کانول به مغز برش‌هایی ایجاد و محل ورود کانول به مغز به وسیلهٔ میکروسکوپ لوپ مطالعه شد. برای مطالعهٔ مقاطع بافتی تهیه شده، اطلس پاکسینوس و واتسون به کار رفت. پس از کسب اطمینان از محل قرارگیری کانول‌ها در نواحی مورد نظر، اطلاعات حاصل تجزیه و تحلیل آماری شد.

۴- آزمایش چهارم: بررسی تأثیر تزریق پنج روزه نیکوتین بر حافظهٔ اجتنابی تخریب شده با WIN55,212، ۲-۲۱۲

### تجزیه و تحلیل آماری

در این آزمایش، مطابق حساسیت القا شده با نیکوتین، حیوانات روزی یک بار و در پنج روز متوالی به صورت زیرجلدی (SC) سالیین (۱ ml/kg) و نیکوتین (۰/۶ mg/kg و ۰/۴، ۰/۲) و ۱۰ روز بعد، بلافاصله پس از آموزش به صورت درون‌مغزی حامل (۱ μg/rat) یا WIN55,212 (۲-۲۱۲ μg/rat) دریافت کردند. ۲۴ ساعت پس از آموزش، در روز آزمون میزان حافظهٔ مهارتی اجتنابی گروه‌های حیوانی مختلف مورد مطالعه و اندازه‌گیری قرار گرفت.

در همهٔ آزمایش‌ها، میزان تأخیر ورود حیوان به خانهٔ سیاه در روز آزمون ملاک حافظه قرار گرفت و نمرهٔ هر گروه به صورت میانگین و انحراف معیار استاندارد (Mean ± S.E.M) ثبت گردید. تعداد آموزش هر حیوان در روز آموزش نیز ثبت شد. برای تعیین بود و نبود اختلاف معنادار بین گروه‌های آزمایش، روش تحلیل واریانس<sup>۲</sup> یک‌طرفه و آزمون توکی به کار رفت. اختلاف در سطح  $p > 0/05$  معنادار تلقی شد. برای انجام محاسبات آماری و رسم نمودارها به ترتیب از دو نرم‌افزار SPSS و Excel استفاده شد.

۵- آزمایش پنجم: بررسی تأثیر تزریق پنج روزه نیکوتین بر حافظهٔ اجتنابی تخریب شده با AM251

### تیمارهای دارویی و آزمایش‌ها

در این آزمایش، حساسیت به نیکوتین با تزریق زیرجلدی (SC) روزانه یک بار نیکوتین (۰/۶ mg/kg و ۰/۴، ۰/۲)، طی پنج روز متوالی و ۱۰ روز عدم دریافت دارو القا گردید. بعد از پایان ۱۰ روز، حیوانات بلافاصله پس از آموزش به صورت درون‌مغزی AM251 (۶۰ ng/rat) دریافت کردند. ۲۴ ساعت پس از آموزش، در روز آزمون میزان حافظهٔ مهارتی اجتنابی گروه‌های حیوانی مختلف مطالعه و اندازه‌گیری شد.

۱- آزمایش اول: بررسی تأثیر تزریق پس از آموزش WIN55,212 روی حافظهٔ اجتنابی مهارتی

در این آزمایش، پنج گروه حیوان به کار رفت؛ گروه اول و دوم بلافاصله پس از آموزش سالیین و حامل و سه گروه باقیمانده بلافاصله پس از آموزش مقادیر مختلف WIN55,212 (۲۵-۲۱۲ μg/rat) را به صورت درون‌مغزی (intra-CA1) دریافت کردند. ۲۴ ساعت پس از آموزش، در روز آزمون میزان حافظهٔ مهارتی اجتنابی گروه‌های مختلف حیوانی مطالعه و اندازه‌گیری شد.

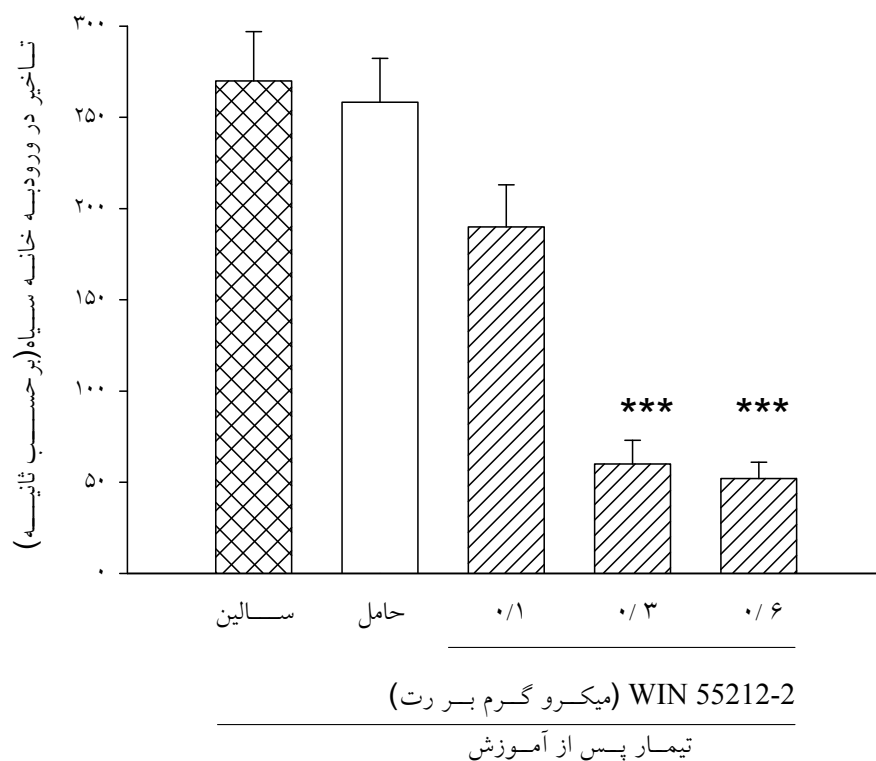
۲- آزمایش دوم: بررسی تأثیر تزریق پس از آموزش AM251 روی حافظهٔ اجتنابی مهارتی

در این آزمایش، چهار گروه حیوان به کار رفت؛ گروه اول بلافاصله

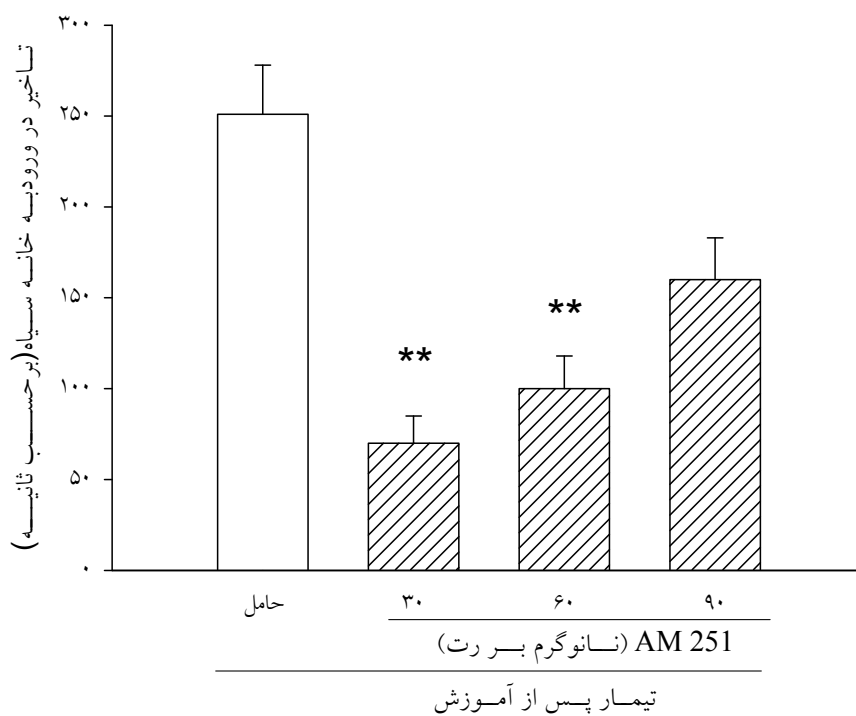
### یافته‌ها

۱- آزمایش اول: نتایج تزریق پس از آموزش WIN55,212، ۲-۲۱۲ بر حافظهٔ اجتنابی مهارتی

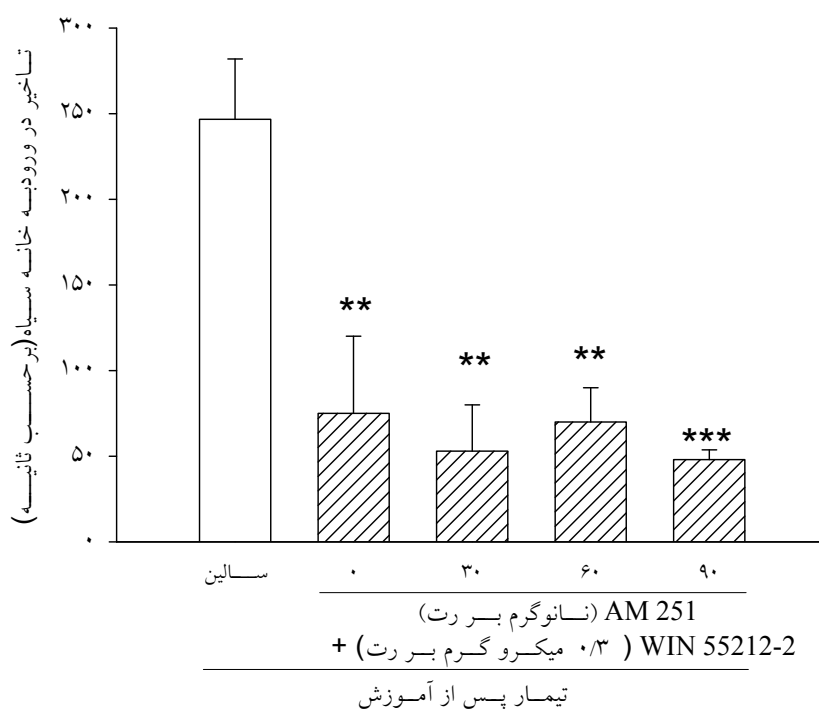
در شکل ۱، گروه‌های آزمایشی، تیمارهای انجام شده و نتایج اثر



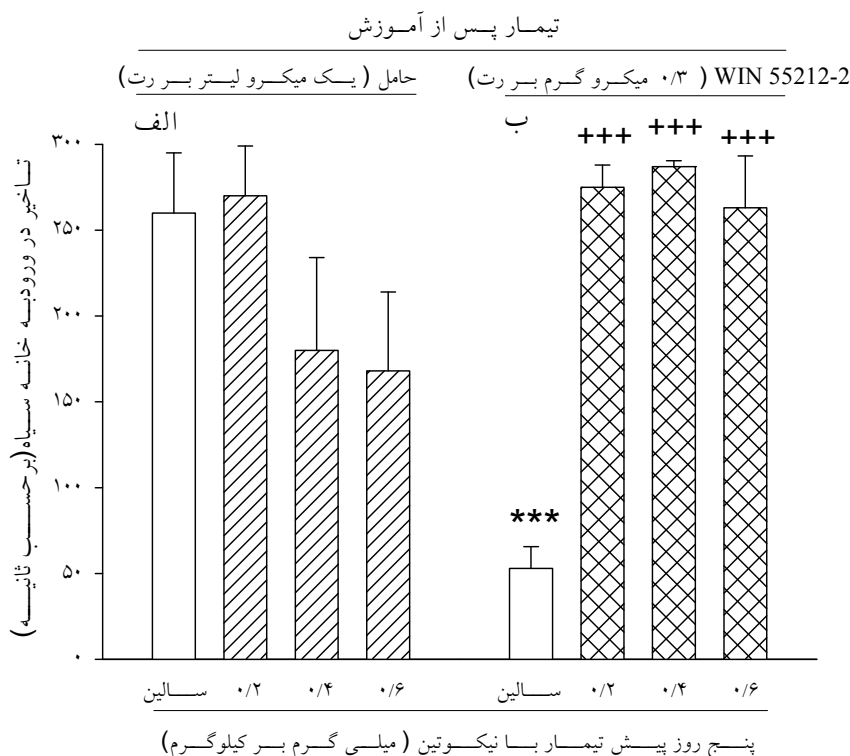
شکل ۱ - اثر تزریق پس از آموزش ۲-۲۱۲، WIN۵۵ بر حافظه اجتنابی مهاري.  $p < 0.001$  در مقایسه با گروه سالین می‌باشد.



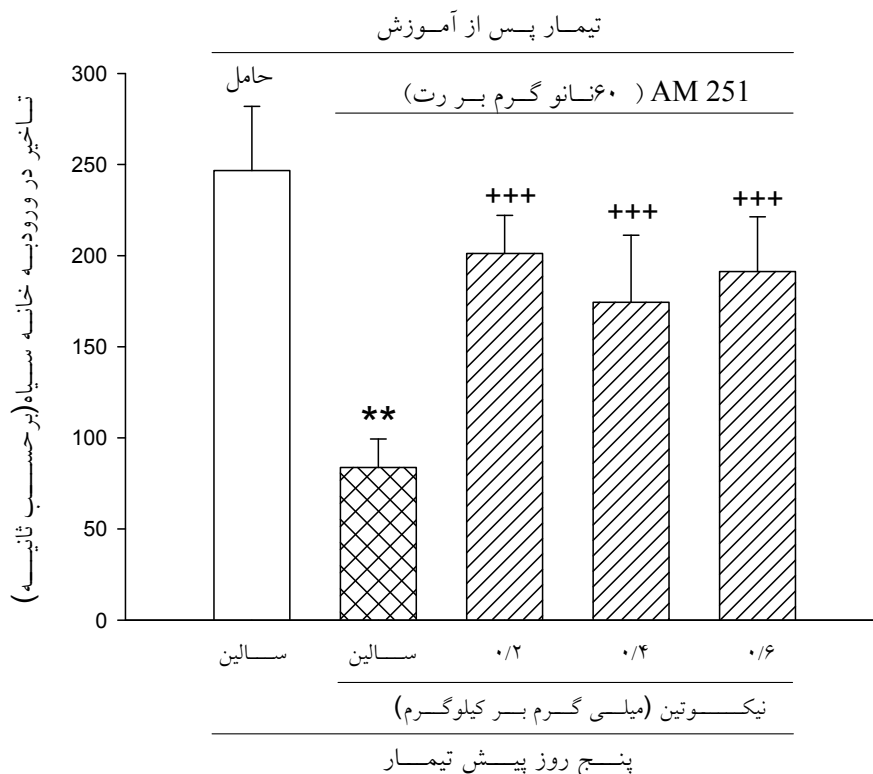
شکل ۲ - اثر تزریق پس از آموزش AM۲۵۱ بر روی حافظه اجتنابی مهاري.  $p < 0.01$  در مقایسه با گروه حامل می‌باشد.



شکل ۳- اثر تزریق AM251 بر حافظه تخریب شده توسط WIN55, 212-2.  $p < 0.01$  و  $p < 0.001$  در مقایسه با گروه حامل می‌باشند.



شکل ۴- اثر پیش تیمار تحت مزمن با نیکوتین بر حافظه اجتنابی مهارى در غياب (شکل A ۴) و حضور WIN55, 212-2 (شکل B ۴).  $p < 0.001$  در مقایسه با گروه سالین/سالین و  $p < 0.001$  در مقایسه با گروه سالین/سالین/سالین می‌باشد.



**شکل ۵** - اثر پیش تیمار تحت مزمن با نیکوتین بر حافظهٔ اجتنابی مهاری در موش‌های صحرایی که پس از آموزش AM251 دریافت نموده‌اند.  $p < 0.01$  در مقایسه با گروه سالین/سالین و  $p < 0.001$  در مقایسه با گروه سالین/AM251 می‌باشد.

در ورود به محل شوک یا به اصطلاح میزان حافظه را در ۲۴ ساعت بعد کاهش می‌دهد. تحلیل واریانس یک‌طرفه بین تعداد آموزش برای یادگیری، در چهار گروه آزمایشی نیز تفاوت معناداری نشان نداد [ $F(4,35) = 0.59, p < 0.05$ ].

### ۳- آزمایش سوم: نتایج تزریق درون مغزی AM251 بر حافظهٔ اجتنابی

تخریب شده با WIN55, ۲-۲۱۲

در شکل ۳، گروه‌های آزمایشی، تیمارهای انجام شده و نتایج اثر تزریق پس از آموزش AM251 بر حافظهٔ تخریب شده با WIN55, ۲-۲۱۲ ارایه شده است. آزمون مکمل توکی نشان داد که تزریق بلافاصله پس از آموزش مقادیر مختلف AM251 (۹۰، ۳۰ و ۶۰ ng/rat)، دو دقیقه قبل از تزریق مقدار مؤثر WIN55, ۲-۲۱۲ (۲/۳ μg/rat) در هیپوکامپ پشتی (CA1)، اثر تخریبی WIN55, ۲-۲۱۲ بر حافظهٔ اجتنابی را مهار نمی‌کند [ $F(4,35) = 17.25, p > 0.01$ ]. به علاوه، بین تعداد آموزش برای یادگیری در پنج گروه آزمایشی تفاوت معناداری مشاهده نشد [ $F(4,35) = 1.21, p < 0.05$ ].

### ۴- آزمایش چهارم: نتایج تزریق پنج روزهٔ نیکوتین بر حافظهٔ اجتنابی

تخریب شده با WIN55, ۲-۲۱۲

تزریق پس از آموزش WIN55, ۲-۲۱۲ روی حافظهٔ اجتنابی مهاری ارایه شده است. آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که تزریق پس از آموزش WIN55, ۲-۲۱۲، حافظهٔ اجتنابی مهاری را تغییر می‌دهد [ $F(4,35) = 37.40, p > 0.01$ ]. انجام آزمون مکمل توکی نشان داد که تزریق پس از آموزش WIN55, ۲-۲۱۲ (۲/۳ μg/rat, intra-CA1) و (۰/۳) تأخیر در ورود به محل شوک، یا به اصطلاح میزان حافظه را در ۲۴ ساعت بعد کاهش می‌دهد. در تحلیل واریانس یک‌طرفه بین تعداد آموزش برای یادگیری در پنج گروه آزمایشی تفاوت معناداری مشاهده نشد [ $F(4,35) = 0.17, p < 0.05$ ].

### ۲- آزمایش دوم: نتایج تزریق پس از آموزش AM251 بر حافظهٔ

اجتنابی مهاری

در شکل ۲، گروه‌های آزمایشی، تیمارهای انجام شده و نتایج اثر تزریق پس از آموزش AM251 بر حافظهٔ اجتنابی مهاری ارایه شده است. آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که تزریق پس از آموزش مقادیر مختلف AM251 (۹۰، ۳۰ و ۶۰ ng/rat)، حافظهٔ اجتنابی مهاری را تغییر می‌دهد [ $F(3,28) = 11.30, p > 0.01$ ]. آزمون مکمل توکی نشان داد که تزریق پس از آموزش AM251 (۳۰ و ۶۰ ng/rat, intra-CA1) تأخیر

مقادیر مختلف WIN55,212-2 بلافاصله بعد از آموزش، به صورت وابسته به مقدار، به کاهش حافظهٔ اجتنابی مهارى در روز آزمون منجر می‌شود (هرناندز ترستان<sup>۱</sup>، اروالو<sup>۲</sup>، کانال<sup>۳</sup> و لرت<sup>۴</sup>، ۲۰۰۰).

مطالعات نشان می‌دهند که آگونیست گیرنده‌های کانابینوئیدی، تقویت طولانی<sup>۵</sup> (LTP) و تخریب حافظه را مهار می‌کند (ویانا<sup>۶</sup>، زکوبردو<sup>۷</sup>، باروس<sup>۸</sup>، مدینا<sup>۹</sup> و زکوبردو، ۱۹۹۹). فعال شدن گیرنده‌های CB1 پیش سیناپسی در پایانهٔ اکسونی، باعث رهایی میانجی‌های عصبی مختلف مانند گلو تامات (شن<sup>۱۰</sup>، پایسر<sup>۱۱</sup>، سیبولد<sup>۱۲</sup> و تایر<sup>۱۳</sup>، ۱۹۹۶)، استیل کولین (گیفرد<sup>۱۴</sup>، تانگ و کاتلی، ۱۹۹۷)، گابا، دوپامین و نورآدرنالین در هیپوکامپ می‌شود (چلیکر و کاتمن، ۲۰۰۱). مطالعات زیادی نشان می‌دهند که استیل کولین نقش مهمی در یادگیری و حافظه دارد (بی<sup>۱۵</sup>، کویی<sup>۱۶</sup> و کویی او<sup>۱۷</sup>، ۲۰۰۱). در حالی که نورون‌های موجود در مدارهای داخلی هیپوکامپ، یعنی نورون‌های بین شکنج دندانه‌ای و ناحیهٔ هیپوکامپ پستی (CA1) و ناحیهٔ CA1 به CA3 گلو تاماتی می‌باشند، نورون‌هایی که از ناحیهٔ سیتوم به هیپوکامپ می‌رسند کولینرژیک هستند. مهار رهایی استیل کولین، انتقال پیام عصبی به هیپوکامپ را کم کرده و به دلیل مهار رهایی گلو تامات در هیپوکامپ، انتقال پیام عصبی را در هیپوکامپ کاهش می‌دهد؛ بنابراین ممکن است WIN55,212-2 به دلیل کاهش رهایی استیل کولین و گلو تامات باعث تخریب حافظه شود (دیویس، پرت وی<sup>۱۸</sup> و ریدال<sup>۱۹</sup>، ۲۰۰۲).

گزارش‌ها نشان می‌دهند که آنتاگونیست گیرنده‌های CB1 باعث بهبود حافظه می‌شود (لایچمن<sup>۲۰</sup>، ۲۰۰۰؛ تاکاهاشی<sup>۲۱</sup>، پامپ لونا<sup>۲۲</sup> و فرناندز<sup>۲۳</sup>، ۲۰۰۵) و یا تأثیری بر آن نمی‌گذارد (داسیلوا<sup>۲۴</sup>، موراتو<sup>۲۵</sup> و تاکاهاشی، ۲۰۰۱). بیشتر این مطالعات تأثیرات سیستمیک آنتاگونیست گیرنده‌های کانابینوئیدی را به طور کلی مورد مطالعه قرار داده‌اند، در حالی که آنتاگونیست‌های مختلف گیرنده‌های کانابینوئیدی می‌توانند تأثیرات شناختی گوناگونی در بخش‌های مختلف مغز بر جای گذارند (داولیورا<sup>۲۶</sup>، ورس<sup>۲۷</sup>، کامبویم<sup>۲۸</sup>، دیحل<sup>۲۹</sup>، گنرو<sup>۳۰</sup>، لائزیوتی<sup>۳۱</sup>، ۲۰۰۵).

در شکل ۴، گروه‌های آزمایشی، تیمارهای انجام شده و نتایج اثر تزریق پنج روزهٔ نیکوتین بر حافظهٔ اجتنابی تخریب شده با WIN55,212-2، ۲-۲۱۲-۲ ارایه شده است. آزمون مکمل توکی نشان داد که تزریق روزانهٔ نیکوتین (۰/۶ mg/kg و ۰/۴، ۰/۲)، طی پنج روز متوالی و قطع دارو به مدت ۱۰ روز اثری بر حافظهٔ اجتنابی ندارد. همه حیوان‌ها بلافاصله پس از آموزش به صورت درون مغزی حامل (۱ ml/rat) دریافت کردند [F(۲۸,۳) = ۲/۳۴, p < ۰/۰۵]. (شکل الف).

تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که حافظهٔ اجتنابی تخریب شده با WIN55,212-2 در موش‌هایی که طی پنج روز متوالی، تزریق روزانهٔ نیکوتین (۰/۶ mg/kg و ۰/۴، ۰/۲) دریافت کرده بودند و ۱۰ روز قطع دارو داشتند، به طور معناداری کاهش یافته است [F(۲۸,۳) = ۴۴/۱۲, p > ۰/۰۰۱]. آزمون مکمل توکی نشان داد که مقادیر مختلف نیکوتین (۰/۶ mg/kg و ۰/۴، ۰/۲)، حافظهٔ تخریب شده با WIN55,212-2 را اصلاح می‌کند (شکل B). تحلیل واریانس یک‌طرفه، بین تعداد آموزش برای یادگیری در چهار گروه آزمایشی شکل A [F(۲۸,۳) = ۰/۷۴, p < ۰/۰۵] یا B [F(۲۸,۳) = ۰/۸۸, p < ۰/۰۵] تفاوت معناداری نشان نداد.

۵- آزمایش پنجم: نتایج تزریق پنج روزهٔ نیکوتین بر حافظهٔ اجتنابی تخریب شده با AM251

در شکل ۵، گروه‌های آزمایشی، تیمارهای انجام شده و نتایج اثر تزریق پنج روزهٔ نیکوتین بر حافظهٔ اجتنابی تخریب شده با AM251 ارایه شده است. تحلیل واریانس یک‌طرفه نشان داد که حافظهٔ اجتنابی تخریب شده با AM251، در موش‌هایی که طی پنج روز متوالی تزریق روزانهٔ نیکوتین (۰/۶ mg/kg و ۰/۴، ۰/۲) دریافت کردند و ۱۰ روز قطع دارو داشتند، به طور معناداری کاهش یافته است [F(۲۸,۳) = ۵/۰۸, p > ۰/۰۰۱]. آزمون مکمل توکی نشان داد که مقادیر مختلف نیکوتین (۰/۶ mg/kg و ۰/۴، ۰/۲) حافظهٔ تخریب شده با AM251 را اصلاح می‌کند. تحلیل واریانس یک‌طرفه، بین تعداد آموزش برای یادگیری در چهار گروه آزمایشی [F(۲۸,۳) = ۰/۸۴, p < ۰/۰۵] تفاوت معناداری نشان نداد.

## بحث

در این پژوهش، با استفاده از روش اجتنابی مهارى (غیرفعال) با مدل step-through (که روشی قابل قبول برای بررسی حافظهٔ درازمدت می‌باشد)، اثر تزریق داروهای کانابینوئیدی به هیپوکامپ پستی (CA1)، بر حافظهٔ موش‌های صحرایی حساس شده با نیکوتین بررسی شد. همسو با مطالعات گذشته، نتایج مطالعات ما نیز نشان می‌دهد که تزریق درون مغزی

1- Hernandez-Tristan	2- Arevalo
3- Canals	4- Leret
5- Long Term Potentiation	6- Vianna
7- Izquierdo	8- Barros
9- Medina	10- Shen
11- Piser	12- Seybold
13- Thayer	14- Gifford
15- Ye	16- Qi
17- Qiao	18- Pertwee
19- Riedel	20- Lichtman
21- Takahashi	22- Pamplona
23- Fernandes	24- da Silva
25- Morato	26- de Oliveira Alvares
27-	28-
29-	30-
31-	



شواهد متعدد نشان دهنده‌ی برهمکنش سیستم کانابینوئیدی و گیرنده‌های نیکوتینی است؛ به عنوان مثال تیمار مزمن با نیکوتین مقدار آندوکانابینوئیدها را در نواحی مختلف مغز تغییر می‌دهد (کاستان<sup>۱۳</sup>، والجت، لدنت، پارمتر، مالدونادو، والورد، ۲۰۰۲). به علاوه نیکوتین در موش‌های فاقد گیرنده‌های CB1 کانابینوئیدی، قادر به فعال کردن مسیر دوپامینی پاداش در مغز نمی‌باشد (گنزالز<sup>۱۴</sup>، کاسیو، فرناندز، فزا، دی مارزو، راموس، ۲۰۰۲).

همچنین مطالعات نشان می‌دهند که بین سیستم کانابینوئیدی و گیرنده‌های نیکوتینی در زمینه‌ی تعدیل پاسخ‌های رفتاری و فیزیولوژیک، برهمکنش وجود دارد. مطالعات اولیه مشخص کرد که بعضی از تأثیرات حاد کانابینوئیدها نظیر سرکوب فعالیت حرکتی، کاهش ضربان قلب و دمای بدن با مصرف همزمان نیکوتین به صورت حاد تشدید می‌شود (پریور<sup>۱۵</sup>، لارسن<sup>۱۶</sup>، هوساین<sup>۱۷</sup>، ۱۹۷۸). بنابراین با توجه به دخالت هر دو سیستم کانابینوئیدی و کولینرژیک در حافظه و یادگیری، همپوشانی گیرنده‌های کانابینوئیدی و گیرنده‌های نیکوتینی در سیستم عصبی مرکزی، تأثیر کانابینوئیدها بر رهایی استیل کولین از پایانه‌ی آکسونی، اهمیت نقص سیستم کولینرژیک در برخی اختلالات حافظه، شباهت عوارض مصرف کانابینوئیدها به برخی از بیماری‌های فراموشی و این نکته که نیکوتین و کانابینوئیدها هر دو جزو موادی هستند که مورد سوء مصرف قرار گرفته و سیستم دوپامینی مزولیمبیک را فعال می‌نمایند، در آزمایش بعدی اثر حساسیت رفتاری ایجاد شده با نیکوتین بر تخریب حافظه‌ی القا شده با آگونیست و آنتاگونیست گیرنده‌های کانابینوئیدی مورد بررسی قرار گرفت.

حساسیت به نیکوتین با تزریق پنج روز، روزی یک بار نیکوتین (mg/kg ۰/۶ و ۰/۴، ۰/۲) و سپس ۱۰ روز عدم دریافت دارو ایجاد شد. نتایج نشان می‌دهد که تزریق مکرر نیکوتین (۰/۶ mg/kg و ۰/۴، ۰/۲) به تنهایی بر حافظه‌ی اجتنابی مهارتی تأثیر ندارد، اما حساسیت به نیکوتین که با تزریق مکرر نیکوتین (۰/۶ mg/kg و ۰/۴، ۰/۲) ایجاد می‌شود، می‌تواند حافظه‌ی تخریب شده به وسیله‌ی تزریق درون مغزی WIN55، ۲۱۲ یا AM251 بر هیپوکامپ پستی را اصلاح نموده و آن را به حالت عادی بازگرداند. بنابراین

در مطالعه‌ی حاضر، تزریق درون مغزی آنتاگونیست اختصاصی گیرنده‌های CB1، AM251 به هیپوکامپ پستی بلافاصله پس از آموزش، به کاهش حافظه‌ی اجتنابی مهارتی در روز آزمون منجر شد. نتایج این تحقیق با نتایج تحقیقاتی که در آن تزریق درون مغزی AM251 به هیپوکامپ به فراموشی منجر می‌شود، هموست (داولیورا ال ورس، داولیورا، کامبوم، دیجل، گنرو، لانزیوتی، ۲۰۰۵) نشان داده شده است که AM251 قادر به مهار تقویت طولانی مدت LTP در هیپوکامپ می‌باشد. مهار LTP به وسیله‌ی AM251 از طریق اثر روی نورون‌های گاباآرژیک صورت می‌گیرد؛ این نورون‌های گاباآرژیک نیز به نوبه‌ی خود بر نورون‌های گلو تاماآرژیک اثر می‌گذارند (کارلسون<sup>۱</sup>، وانگ<sup>۲</sup> و الگر<sup>۳</sup>، ۲۰۰۲؛ چوالیر<sup>۴</sup> و کاستیلو<sup>۵</sup>، ۲۰۰۳؛ داولیورا ال ورس، داولیورا، کامبوم، دیجل، گنرو، لانزیوتی، ۲۰۰۵). به نظر می‌رسد که آندوکانابینوئیدها به صورت تنظیم کننده‌ی طبیعی در هیپوکامپ پستی عمل کرده، در تغییر شکل سیناپسی نقش دارند و فراموشی القا شده به وسیله‌ی AM251 به علت حذف عملکرد این تنظیم کننده‌ی طبیعی در هیپوکامپ می‌باشد (داولیورا ال ورس، داولیورا، کامبوم، دیجل، گنرو، لانزیوتی، ۲۰۰۵).

دریک آزمایش دیگر، اثر تزریق درون مغزی مقادیر مختلف AM251 بر تخریب حافظه به وسیله‌ی WIN55، ۲۱۲-۲ بررسی شد. نتایج نشان دادند که تزریق درون مغزی مقادیر مختلف AM251 بلافاصله بعد از آموزش و دو دقیقه قبل از تزریق درون مغزی مقدار مؤثر WIN55، ۲۱۲-۲، قادر به مهار پاسخ مهارتی القا شده با WIN55، ۲۱۲-۲ نیست. این نتایج نشان دهنده‌ی آن است که WIN55، ۲۱۲-۲ بخشی از اثر خود را بر القای فراموشی از طریق گیرنده‌هایی غیر از گیرنده‌ی CB1 اعمال می‌نماید. در تایید این موضوع مطالعات دیگر بیان کننده‌ی وجود احتمال گیرنده‌ی کانابینوئیدی جدیدی است که آنتاگونیست انتخابی گیرنده‌ی CB1 بر آن اثری ندارد (هیجوس<sup>۶</sup>، کیتونا، نیم، ماک کی، لدنت<sup>۷</sup>، مودی و فروند<sup>۸</sup>، ۲۰۰۰؛ هیجوس، لدنت و فروند، ۲۰۰۱؛ هافمن<sup>۹</sup> و لوپیکا<sup>۱۰</sup>، ۲۰۰۰؛ میسنر<sup>۱۱</sup> و سولیوان<sup>۱۲</sup>، ۱۹۹۹).

مطالعات نشان می‌دهند که AM251 در ایجاد مهار پتانسیل پس سیناپسی مهارتی (گاباآرژیک) قادر به مهار اثر WIN55، ۲۱۲-۲ می‌باشد، اما نمی‌تواند اثر مهارتی WIN55، ۲۱۲-۲ بر پتانسیل پس سیناپسی تحریکی (گلو تاماآرژیک) را خنثی نماید. این امر مؤید آن است که WIN55، ۲۱۲-۲ بخشی از اثر خود را از طریق گیرنده‌هایی غیر از CB1 القا می‌نماید (هاجوس و فروند، ۲۰۰۲). همچنین ممکن است بخشی از ناتوانی AM251 در مهار تخریب حافظه به وسیله‌ی WIN55، ۲۱۲-۲، ناشی از اثر تخریبی خود آنتاگونیست بر حافظه باشد.

- |             |               |
|-------------|---------------|
| 1- Carlson  | 2- Wang       |
| 3- Alger    | 4- Chevalerye |
| 5- Castillo | 6- Hajos      |
| 7- Lednet   | 8- Freund     |
| 9- Hoffman  | 10- Lupica    |
| 11- Misner  | 12- Sullivan  |
| 13- Castane | 14- Gonzalez  |
| 15- Pryor   | 16- Larsen    |
| 17- Husain  |               |

با مرفین می‌تواند فراموشی القا شده با مرفین را بازگرداند (زرین دست، رضایوف، ۲۰۰۴). مطالعه حاضر نشان می‌دهد که حساسیت با نیکوتین می‌تواند تخریب حافظه ایجاد شده به وسیله WIN55, 212-2 یا AM251 را اصلاح کرده، آن را به حالت عادی بازگرداند. در فرآیند بازگشت حافظه به روش حساسیت‌زایی با نیکوتین ممکن است مکانیسم‌های دوپامینرژیک و یا کولینرژیک دخیل باشند. در مجموع می‌توان گفت که ایجاد حساسیت با نیکوتین می‌تواند اثر داروهای کانابینویدی بر هیپوکامپ پستی را تغییر دهد.

## سپاسگزاری

بدین وسیله از زحمات دکتر محمد ناصحی که ما را در بهبود تحقیق حاضر یاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌شود.

دریافت مقاله: ۱۳۸۷/۸/۲۳؛ پذیرش مقاله: ۱۳۸۸/۶/۲۳

## منابع

- Al-Hayani, A., & Davies, S. N. (2002). Effect of cannabinoids on synaptic transmission in the rat hippocampal slice is temperature-dependent. *European Journal of Pharmacology*, 442(1-2), 47-54.
- Bacciottini, L., Passani, M. B., Mannaioni, P. F., & Blandina, P. (2001). Interactions between histaminergic and cholinergic systems in learning and memory. *Behavioural Brain Research*, 124(2), 183-194.
- Benwell, M. E., & Balfour, D. J. (1992). The effects of acute and repeated nicotine treatment on nucleus accumbens dopamine and locomotor activity. *British Journal of Pharmacology*, 105(4), 849-856.
- Carlson, G., Wang, Y., & Alger, B. E. (2002). Endocannabinoids facilitate the induction of LTP in the hippocampus. *Nature Neuroscience*, 5(8), 723-724.
- Castane, A., Valjent, E., Ledent, C., Parmentier, M., Maldonado, R., & Valverde, O. (2002). Lack of 1CB cannabinoid receptors modifies nicotine behavioural responses, but not nicotine abstinence. *Neuropharmacology*, 43(5), 857-867.
- Chaperon, F., & Thiebot, M. H. (1999). Behavioral effects of cannabinoid agents in animals. *Critical Reviews in Neurobiology*, 13(3), 243-281.
- Chevalyere, V., & Castillo, P. E. (2003). *Heterosynaptic LTD of hippocampal GABAergic synapses: A novel role of endocannabinoids in regulating excitability*. *Neuron*, 38(3), 461-472.
- Clarke, P. B., Fu, D. S., Jakubovic, A., & Fibiger, H. C. (1988). Evidence that mesolimbic dopaminergic activation underlies the locomotor stimulant action of nicotine in rats. *Journal of Pharmacology and Experimental*, 246(2), 701-708.
- da Silva, G. E., Morato, G. S., & Takahashi, R. N. (2001). Rapid tolerance to  $\Delta 9$ -tetrahydrocannabinol and cross-tolerance between ethanol and  $\Delta 9$ -tetrahydrocannabinol in mice. *European Journal of Pharmacology*, 431(2), 201-207.
- Davies, S. N., Pertwee, R. G., & Riedel, G. (2002). Functions of cannabinoid receptors in the hippocampus. *Neuropharmacology*, 42(8), 993-1007.
- de Oliveira Alvares, L., de Oliveira, L. F., Camboim, C., Diehl, F., Genro, B. P., Lanzotti, V. B., & Quillfeldt, J. A. (2005). Amnestic effect of intrahippocampal 251AM, a 1CB-selective blocker, in the inhibitory avoidance, but not in the open field habituation task, in rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, 83(2), 119-124.
- Degroot, A., & Parent, M. B. (2001). Infusions of physostigmine into the hippocampus or the entorhinal cortex attenuate avoidance retention deficits produced by intra-septal infusions of the GABA agonist muscimol. *Brain Research*, 920(1-2), 10-18.
- Eidi, M., Zarrindast, M. R., Eidi, A., Oryan, S., & Parivar, K. (2003). Effects of histamine and cholinergic systems on memory retention of passive avoidance learning in rats. *European Journal of Pharmacology*, 465(1-2), 91-96.
- Everitt, B. J., & Robbins, T. W. (1997). Central cholinergic systems and cognition. *Annual Review of Psychology*, 48, 649-684.

- Gonzalez, S., Cascio, M. G., Fernandez-Ruiz, J., Fezza, F., Di Marzo, V., & Ramos, J. A. (2002). Changes in endocannabinoid contents in the brain of rats chronically exposed to nicotine, ethanol or cocaine. *Brain Research*, 954(1), 73-81.
- Gifford, A. N., Tang, Y., Gatley, S. J., Volkow, N. D., Lan, R., & Makriyannis, A. (1997). Effect of the cannabinoid receptor SPECT agent, AM 281, on hippocampal acetylcholine release from rat brain slices. *Neuroscience Letters*, 238(1-2), 84-86.
- Hajos, N., & Freund, T. F. (2002). Pharmacological separation of cannabinoid sensitive receptors on hippocampal excitatory and inhibitory fibers. *Neuropharmacology*, 43(4), 503-510.
- Hajos, N., Katona, I., Naiem, S. S., MacKie, K., Ledent, C., Mody, I., & Freund, T. F. (2000). Cannabinoids inhibit hippocampal GABAergic transmission and network oscillations. *European Journal of Neuroscience*, 12(9), 3239-3249.
- Hajos, N., Ledent, C., & Freund, T. F. (2001). Novel cannabinoid-sensitive receptor mediates inhibition of glutamatergic synaptic transmission in the hippocampus. *Neuroscience*, 106(1), 1-4.
- Hernandez-Tristan, R., Arevalo, C., Canals, S., & Leret, M. L. (2000). The effects of acute treatment with delta9-THC on exploratory behaviour and memory in the rat. *Journal of Physiology and Biochemistry*, 56(1), 17-24.
- Hoffman, A. F., & Lupica, C. R. (2000). Mechanisms of cannabinoid inhibition of GABA(A) synaptic transmission in the hippocampus. *Journal of Neuroscience*, 20(7), 2470-2479.
- Kalivas, P. W., & Stewart, J. (1991). Dopamine transmission in the initiation and expression of drug- and stress-induced sensitization of motor activity. *Brain Research. Brain Research Reviews*, 16(3), 223-244.
- Lichtman, A. H. (2000). SR 141716A enhances spatial memory as assessed in a radial-arm maze task in rats. *European Journal of Pharmacology*, 404(1-2), 175-179.
- Louis, M., & Clarke, P. B. (1998). Effect of ventral tegmental 6-hydroxydopamine lesions on the locomotor stimulant action of nicotine in rats. *Neuropharmacology*, 37(12), 1503-1513.
- Misner, D. L., & Sullivan, J. M. (1999). Mechanism of cannabinoid effects on long-term potentiation and depression in hippocampal CA1 neurons. *Journal of Neuroscience*, 19(16), 6795-6805.
- Panagis, G., Nisell, M., Nomikos, G. G., Chergui, K., & Svensson, T. H. (1996). Nicotine injections into the ventral tegmental area increase locomotion and Fos-like immunoreactivity in the nucleus accumbens of the rat. *Brain Research*, 730(1-2), 133-142.
- Pryor, G. T., Larsen, F. F., Husain, S., & Braude, M. C. (1978). Interactions of delta9-tetrahydrocannabinol with d-amphetamine, cocaine, and nicotine in rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 8(3), 295-318.
- Paxinos, G., & Watson, C. (2007). *The rat brain in stereotaxic coordinates*. San Diego: Academic Press.
- Robinson, T. E., & Berridge, K. C. (1993). The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Research Review*, 18(3), 247-291.
- Sanger, D. J., & Joly, D. (1990). Psychopharmacological strategies in the search for cognition enhancers. *Pharmacopsychiatry*, 23, 70-74.
- Schlicker, E., & Kathmann, M. (2001). Modulation of transmitter release via presynaptic cannabinoid receptors. *Trends Pharmacological Sciences*, 22(11), 565-572.
- Shen, M., Piser, T. M., Seybold, V. S., & Thayer, S. A. (1996). Cannabinoid receptor agonists inhibit glutamatergic synaptic transmission in rat hippocampal cultures. *Journal of Neuroscience*, 16(14), 4322-4334.
- Takahashi, R. N., Pamplona, F. A., & Fernandes, M. S. (2005). The cannabinoid antagonist SR141716A facilitates memory acquisition and consolidation in the mouse elevated T-maze. *Neuroscience Letters*, 380(3), 270-275.
- Vianna, M. R., Izquierdo, L. A., Barros, D. M., Medina, J. H., & Izquierdo, I. (1999). Intrahippocampal infusion of an inhibitor of protein kinase A separates short- from long-term memory. *Behavioural Pharmacology*, 10(2), 223-227.
- Wilson, R. I., & Nicoll, R. A. (2002). *Endocannabinoid signaling in the brain*. *Science*, 296, 678-682.
- Ye, L., Qi, J. S., & Qiao, J. T. (2001). Long-term potentiation in hippocampus of rats is enhanced by endogenous acetylcholine in a way that is independent of N-methyl-D-aspartate receptors. *Neuroscience Letters*, 300(3), 145-148.
- Zarrindast, M. R., Bakhsha, A., Rostami, P., & Shafaghi, B. (2002). Effects of intrahippocampal injection of GABAergic drugs on memory retention of passive avoidance learning in rats. *Journal of Psychopharmacol*, 16(4), 313-319.
- Zarrindast, M. R., & Rezayof, A. (2004). Morphine state-dependent learning: sensitization and interactions with dopamine receptors. *European Journal of Pharmacology*, 497(2), 197-204.