تأثیرات WIN۵۵،۲۱۲-۲ هیپوکامپ پشتی بر یادگیری وابسته به وضعیت اسکوپولامین

مرتضی پیری*
گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل
محمد ناصحی
گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار
مریم‌السادات شاهین
عضو باشگاه پژوهشگران جوان، شاخه دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرری
دکتر محمدرضا زرین‌دست
گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی و مرکز ملی مطالعات اعتیاد، دانشگاه علوم پزشکی تهران

* نشانی تماس: اردبیل، میدان بسیج، دانشکدهٔ پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
Email: biopiri@yahoo.com

هدف: بررسی اثر WIN۵۵،۲۱۲-۲، آگونیست گیرنده‌های کانابینوئیدی، بر یادگیری وابسته به وضعیت القاشده با اسکوپولامین. **روش:** در این مطالعه، از روش اجتنابی مهاری (غیرفعال) با مدل Step-down که یک روش پذیرفته‌شده در بررسی حافظهٔ درازمدت موش‌های سوری است، استفاده شد. **یافته‌ها:** تزریق پس از آموزش اسکوپولامین (۴،۲، میکروگرم/موش) به ناحیهٔ CA۱، باعث کاهش به‌یادآوری حافظه شد. کاربرد اسکوپولامین پیش از آزمون، به‌یادآوری حافظه در روز آزمون را به حد طبیعی برگرداند. این پدیده، به عنوان یادگیری وابسته به وضعیت اسکوپولامین شناخته می‌شود. تزریق داخل هیپوکامپی WIN۵۵،۲۱۲-۲ (۰/۵، ۱ میکروگرم/ موش) پنج دقیقه قبل از آزمون، به یادآوری حافظه را کاهش داد. از طرف دیگر، تزریق داخل هیپوکامپی WIN۵۵،۲۱۲-۲ (۱ میکروگرم/ موش) قبل از آزمون (در روز آزمون و ۲۴ ساعت بعد از آموزش)، باعث برگشت حافظهٔ حیواناتی شد که به‌کار بردن اسکوپولامین (۲ میکروگرم/ موش) بعد از آموزش، به‌یادآوری حافظهٔ آنها را تخریب کرده بود. به‌علاوه، تزریق مقدار غیرمؤثر اسکوپولامین همراه با مقادیر غیرمؤثر WIN۵۵،۲۱۲-۲، به صورت سینرژیک، قبل از آزمون، بازگشت حافظه به وسیلهٔ اسکوپولامین را افزایش داد. **نتیجه‌گیری:** این یافته‌ها نشان می‌دهند که گیرنده‌های کانابینوئیدی ناحیهٔ CA۱ هیپوکامپ پشتی، نقش مهمی در فراموشی القاشده با اسکوپولامین و یادگیری وابسته به وضعیت اسکوپولامین دارند.

کلیدواژه‌ها: *اسکوپولامین، WIN۵۵،۲۱۲-۲، یادگیری وابسته به وضعیت، یادگیری اجتنابی مهاری، موش‌های کوچک آزمایشگاهی.*

Effects of WIN55,212-2 in the Dorsal Hippocampus on Scopolamine State-Dependent Memory

Morteza Piri
Islamic Azad University, Ardebil Branch
Mohammad Nasehi
Islamic Azad University, Garmsar Branch
Maryam-ol-Sadat Shahin
Young Researchers Club, Islamic Azad University, Shahr-e-rey branch
Mohammad Reza Zarrindast
Tehran University of Medical Science

Email: biopiri@yahoo.com

Objective: To assess the effects of the cannabinoid receptor agonist, WIN55, 212-2 on scopolamine induced state-dependent memory. **Method:** The step-down passive avoidance paradigm was used in the present study, which is an accepted model to examine long-term memory in mice. **Results**: Post-training intra-CA1 administration of scopolamine (2 and 4 µg/mouse) decreased the memory retrieval. Pre-test scopolamine administration restored the retrieval to the control level in the test day. This phenomenon is known as scopolamine state-dependent memory. Administration of WIN55, 212-2 (1 µg/mouse, intra-CA1) 5 min before test by itself decreased the memory retrieval. On the other hand, the animals in which memory retrieval was impaired due to scopolamine (2 µg/mouse) post-training administration, pre-test administration of WIN55, 212-2 (1 µg/mouse, intra-CA1) 24 hr after training on the day of the test restored memory. Moreover, pre-test co-administration of non-effective dose of scopolamine with ineffective dose of WIN55, 212-2 increased the restoration of memory by scopolamine. **Conclusion:** These results suggest that cannabinoid receptors of the dorsal hippocampal CA1 regions may play an important role in scopolamine-induced amnesia and scopolamine state-dependent memory.

Keywords: *scopolamine, WIN55, 212-2, state-dependent memory, passive avoidance task, mouse*

مقدمه

یادگیری وابسته به وضعیت پدیده‌ای است که درآن یادآوری اطلاعات جدید، فقط در شرایطی صورت می‌گیرد که فرد از لحاظ حسی و فیزیولوژیک در همان شرایطی قرار گیرد که اطلاعات در آن رمزگذاری شده است (شولز[۱]، سوسنیک[۲]، اگو[۳]، هیدارلیو[۴] و اهیسر[۵]، ۲۰۰۰). داروهای مختلف مانند اپیوئیدها (زرین‌دست و رضایوف، ۲۰۰۴)، لیتیم (زرین‌دست، مددی و احمدی، ۲۰۰۸) و هیستامین (زرین‌دست، فضلی تبائی، خلیل‌زاده، فرهمن‌فر و یاوری، ۲۰۰۵) می‌توانند یادگیری وابسته به وضعیت ایجاد کنند. از مدل یادگیری اجتنابی مهاری[۶] به‌طور گسترده، در بررسی حافظهٔ درازمدت (که هیپوکامپ یا ساختارهای جانبی مانند استریاتوم در ایجاد آن نقش دارند) استفاده می‌شود (ایزکیوایردو[۷] و مدینا[۸]، ۱۹۹۷؛ مک‌گواگ[۹] و ایزکیوایردو، ۲۰۰۰).

سیستم کولینرژیک مغز، به‌ویژه ورودی‌های کولینرژیکی که از بخش میانی سپتوم و بازوی عمودی ناحیهٔ مورب بروکا منشاء می‌گیرند، اهمیت زیادی در یادگیری و حافظه دارند (بلوکلند[۱۰]، ۱۹۹۵). مطالعات فارماکولوژیکی حاکی از آن است که مهارکننده‌های استیل‌کولین‌استراز (که میزان استیل‌کولین را در فضای سیناپسی افزایش می‌دهند) باعث بهبود عملکرد شناختی جوندگان و انسان می‌شوند، در حالی‌که داروهای آنتی‌کولینرژیک، حافظه و یادگیری را در مدل‌های مختلف تخریب می‌کنند (زرین‌دست، بخشا، رستمی و شفقی، ۲۰۰۲). همچنین، مطالعات نشان می‌دهند که عملکرد نورون‌های کولینرژیک در طی یادگیری تغییر می‌کند. این نورون‌ها در طی یادگیری فعال‌تر از حالت استراحت می‌شوند (فادا[۱۱]، روبینسون[۱۲]، فراتا[۱۳]، پرتوی[۱۴] و ریدل[۱۵]، ۲۰۰۶).

تحقیقات نشان داده‌اند که فعال شدن گیرندهٔ موسکارینی استیل‌کولین باعث فعال شدن نورون‌های هرمی و افزایش رهایش گلوتامات در هیپوکامپ می‌شود. فعال شدن این گیرنده‌ها تغییر شکل سیناپسی و تقویت درازمدت سیناپسی[۱۶] را در نواحی مختلف مغز تسهیل می‌کند (هاسلمو[۱۷]، ۱۹۹۹). اسکوپولامین، که آنتاگونیست گیرندهٔ موسکارینی استیل‌کولین است، باعث تخریب حافظه در مدل‌های مختلف یادگیری می‌شود. مطالعات نشان می‌دهند که بین نقص حافظهٔ ایجادشده در بیماران آلزایمری و حیوانات تیمارشده با اسکوپولامین شباهت‌های زیادی وجود دارد؛ به‌طوری که برای ایجاد مدل حیوانی بیماری آلزایمر در مطالعات فارماکولوژیکی از اسکوپولامین استفاده می‌کنند (بارتوس[۱۸]، ۲۰۰۰).

سیستم کانابینوئیدی نیز مانند سیستم کولینرژیک می‌تواند حافظه و یادگیری را تحت تأثیر قرار دهد (تیمن[۱۹]، فلچر[۲۰]، لدنت[۲۱]، مولمن[۲۲] و هاسنورل[۲۳]، ۲۰۰۷). کانابینوئیدها تأثیرات خود را از طریق سه گیرندهٔ اصلی CB۱، CB۲ و CB۳ (گیرنده‌های غیر CB۱ / CB۲) اعمال می‌کنند (ریبرگ[۲۴] و همکاران، ۲۰۰۷). مطالعات انجام‌شده با آزمون‌های رفتاری مختلف (مانند *ماز شعاعی، ماز آبی موریس و آزمون حافظهٔ اجتنابی مهاری*) نشان می‌دهند که بیشتر تأثیرات رفتاری آندوکانابینوئیدها به وسیلهٔ گیرنده‌های کانابینوئیدی CB۱ میانجی‌گری می‌شود (داولیورا الورس[۲۵] و همکاران، ۲۰۰۵؛ تیمن و همکاران، ۲۰۰۷).

مدارک زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد کانابینوئیدها می‌توانند رهایش چندین میانجی عصبی را در قسمت‌های مختلف مغز مهار نمایند (شلیکر[۲۶] و کاتمن[۲۷]، ۲۰۰۱). کانابینوئیدها، با اثر بر گیرنده‌های کانابینوئیدی، رهایش میانجی‌های مختلف مانند

1- Shulz
2- Sosnik
3- Ego
4- Haidarliu
5- Ahissar
6- inhibitory avoidance learning
7- Izquierdo
8- Medina
9- McGaugh
10- Blokland
11- Fadda
12- Robinson
13- Fratta
14- Pertwee
15- Riedel
16- long-term potentiation
17- Hasselmo
18- Bartus
19- Thiemann
20- Fletcher
21- Ledent
22- Molleman
23- Hasenohrl
24- Ryberg
25- de Oliveira Alvares
26- Schlicker
27- Kathmann

گلوتامات، استیل‌کولین، گاما آمینوبوتیریک اسید، دوپامین و نوراپی‌نفرین را در هیپوکامپ کاهش می‌دهند (ال ـ هایانی[1] و دیویس[2]، ۲۰۰۲). با توجه به اثر کانابینوئیدها بر رهایش استیل‌کولین در هیپوکامپ، حضور گیرنده‌های موسکارینی و کانابینوئیدی در هیپوکامپ و با در نظر داشتن این نکته که سیستم کانابینوئیدی و گیرنده‌های موسکارینی یادگیری و حافظه را تحت تأثیرقرار می‌دهند، در این مطالعه برای اولین بار توانایی اسکوپولامین در ایجاد یادگیری وابسته به وضعیت و اثر کانابینوئیدها بر یادگیری وابسته به وضعیت القاشده با اسکوپولامین بررسی شد.

روش

در این آزمایش‌ها که همه در طول روز انجام می‌شد، موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMRI، با وزن تقریبی ۲۲ تا ۳۰ گرم، مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا این حیوانات از انستیتو پاستور ایران به حیوان‌خانهٔ تحقیقاتی انتقال یافتند. قبل از جراحی، یک هفته به موش‌ها فرصت داده شد تا خود را با شرایط جدید تطبیق دهند. موش‌ها به گروه‌های ده‌تایی تقسیم شدند و در طول آزمایش‌ها آب و غذای کافی در اختیارشان قرار گرفت. دمای حیوان‌خانه بین ۳ ± ۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد متغیر بود.

دستگاه یادگیری اجتنابی مهاری (غیرفعال)[3]، مدل Step-down، جعبه‌ای است چوبی به ابعاد ۴۰×۳۰× ۳۰ سانتی‌متر که در کف آن ۲۹ میلهٔ فولادی به قطر ۰/۳ سانتی‌متر تعبیه شده است. این میله‌ها به فاصلهٔ یک سانتی‌متر از یکدیگر قرار گرفته‌اند. در قسمت میانی دستگاه (کف و روی میله‌های فلزی) یک سکوی مکعبی چوبی به ابعاد ۴× ۴×۴ سانتی‌متر قرار دارد. این میله‌ها به دستگاه تحریک‌کننده متصل و شوک الکتریکی از طریق آنها به حیوانات آزمایش وارد می‌شود. آزمایش‌ها در اتاق نسبتاً تاریک و ساکت انجام شد.

در این تحقیق، داروهای اسکوپولامین (سیگما، آمریکا) و WIN۵۵،۲۱۲-۲ (تاکریس، آمریکا) مورد استفاده قرار گرفت. WIN۵۵،۲۱۲-۲ در حاملی که ۹۰ درصد آن سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد و ۱۰ درصد باقی‌مانده دی متیل سولفوکسید بود، حل شد. سرانجام به محلول فوق، یک قطره روغن توئین ۸۰ اضافه شد. اسکوپولامین را بلافاصله قبل از آزمایش‌ها در سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد حل کردند.

ابتدا موش‌های کوچک آزمایشگاهی با کتامین هیدروکلرید[4] (۱۰۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم) و گزیلزین[5] (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) بی‌هوش و سپس در دستگاه استریوتاکسی قرار داده شدند. پس از آن، بر اساس اطلس پاکسینوس[6] و فرانکلین[7] (۲۰۰۱)، دوکانول راهنما (۲۲G)، یک میلی‌متر بالاتر از محل تزریق و به‌صورت دوطرفه قرار گرفت. مختصات ناحیهٔ CA۱ هیپوکامپ پشتی عبارت بود از : AP=-۲، ML=±۱/۶، V=-۱/۵. بعد از قرار دادن کانول در مختصات مورد نظر، کانول‌های راهنما با سیمان دندان‌پزشکی در جای خود محکم شدند. پس از جراحی و قبل از تزریق درون‌مغزی دارو، به حیوان فرصت داده شد به منظور رفع استرس و تخریب احتمالی بافت بر اثر جراحی، پنج تا هفت روز دورهٔ بهبود[8] را سپری کرده و به حالت عادی خود برگردد.

آزمون‌های رفتاری

از روش اجتنابی مهاری، برای بررسی حافظهٔ موش‌های کوچک آزمایشگاهی در دو روز متوالی استفاده شد. در روز اول یا روز آموزش[9]، حیوان‌ها در دستگاه تحت آموزش قرار گرفتند و در روز دوم یا روز آزمون[10]، میزان حافظهٔ حیوان‌های آموزش‌دیده بررسی شد.

در روش اجتنابی مهاری، مدل Step-down، هر حیوان به آرامی روی سکوی مکعبی دستگاه ارزیابی حافظه قرار می‌گیرد و مدت زمان توقفش روی سکو (قبل از پایین آمدن) ثبت می‌شود. توقف بیش از ۲۰ ثانیه به حذف موش

1- Al-Hayani
2- Davies
3- inhibitory (passive) avoidance apparatus
4- ketamine hydrochloride
5- xylazine
6- Paxinos
7- Franklin
8 - recovery
9- training day
10- testing day

از آزمایش می‌انجامد. حیوان بلافاصله بعد از پایین آمدن از مکعب چوبی و قرارگرفتن پاهایش روی میله‌های فولادی، به مدت ۱۵ ثانیه شوک الکتریکی (۱هرتز، ۰/۵ ثانیه و ۴۵ ولت مستقیم) دریافت می‌کرد. شوک به وسیلهٔ یک محرک به میله‌های فولادی انتقال می‌یافت (هیراماتسو[1]، ساساکی[2] و کامیاما[3]، ۱۹۹۵). زمان اجرای مراحل آموزش در فاصلهٔ ۸ صبح تا ۲ بعد ازظهر بود.

جلسهٔ آزمون ۲۴ساعت بعد از آموزش، با فرآیندهایی مشابه آموزش انجام شد، با این تفاوت که در این روز شوکی داده نشد. مدت زمان توقف موش روی سکو، به عنوان معیار حافظهٔ موش اندازه‌گیری شد. حداکثر زمان توقف موش روی سکو (زمان سقف[4]) ۳۰۰ ثانیه است (همایون، خاوندگار و زرین‌دست، ۲۰۰۳).

برای تزریق دارو، پس از برداشتن سیم داخل کانول راهنما، سر سوزن ۲۷G دندان‌پزشکی در داخل کانول راهنمای ۲۲G قرار داده شد. سر سوزن ۹ میلی‌متر طول داشت و به کت‌دان تیوب[5] نوزاد (شمارهٔ ۴) متصل بود. در هر کانول، کانول، ۰/۵ میکرولیتر دارو، در مدت ۶۰ تا ۹۰ ثانیه تزریق شد. مجموع حجم تزریق درون‌مغزی به هر موش یک میکرولیتر است. در طول تزریق به حیوان اجازه داده می‌شد بدون هیچ استرسی آزادانه حرکت کند.

پس از کشتن حیوان‌ها با کلروفرم و تزریق ۰/۵ میکرولیتر رنگ متیلن بلو ۱ درصد در داخل هر کانول، مغز از درون جمجمه 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 داده شد و محل ورود کانول به مغز به وسیلهٔ میکروسکوپ لوپ مورد مطالعه قرار گرفت. مقاطع بافتی تهیه‌شده به وسیلهٔ اطلس پاکسینوس مطالعه شد. پس از کسب اطمینان از محل قرارگیری کانول‌ها در نواحی مورد نظر، اطلاعات حاصل از حیوان مورد تجزیه و تحلیل آماری قرارگرفت.

زمان توقف حیوان روی سکو در همهٔ آزمایش‌ها، به صورت میانه[6] و چارک ثبت شد. به علت پاسخ‌های یادگیری بسیار متفاوت حیوانات و همچنین ظرفیت یادگیری هر حیوان، داده‌ها با آنالیز واریانس یک‌طرفه، مخصوص داده‌های غیر پارامتریک (آزمون کروسکال ـ والیس) و جفت گروه‌ها با آزمون من- ویتنی بررسی شدند. در تمام ارزیابی‌های آماری، $p<۰/۰۵$ حداقل معیار معنادار بودن مقایسهٔ گروه‌ها بود. برای محاسبات آماری از نرم‌افزار SPSS و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل استفاده شد.

تیمارهای دارویی و آزمایش‌ها

۱- آزمایش اول- تأثیر تزریق پس از آموزش و پیش از آزمون اسکوپولامین بر حافظهٔ اجتنابی مهاری: در این آزمایش، هفت گروه حیوان به‌کار رفت. بلافاصله پس از آموزش، به حیوانات گروه اول، سالین، و به سه گروه دیگر مقادیر مختلف اسکوپولامین (۰/۵، ۲ و۴ میکروگرم/ موش) به صورت درون‌مغزی تزریق شد. در روز آزمون، پنج دقیقه قبل از آزمون، تمام گروه‌ها سالین (۱ میکرولیتر/ موش) دریافت کردند (شکل ۱). به سه گروه بعدی، بلافاصله پس از آموزش، اسکوپولامین (۲ میکروگرم/ موش) به صورت درون‌مغزی و در روز آزمون پنج دقیقه قبل از آزمون، مقادیر مختلف اسکوپولامین (۰/۵، ۲ و ۴ میکروگرم/ موش) به صورت درون‌مغزی تزریق شد (شکل ۲).

۲- آزمایش دوم - تأثیر تزریق درون‌مغزی WIN۵۵،۲۱۲-۲، بر حافظهٔ اجتنابی تخریب شده با اسکوپولامین: در این آزمایش هشت گروه حیوان به‌کار رفت. چهار گروه اول، در روز آموزش به صورت درون‌مغزی، سالین (۱ میکرولیتر/ موش) و در روز آزمون (پنج دقیقه قبل از آزمون) مقادیر مختلف

6 - Median
1- Hiramatsu
2- Sasaki
3- Kameyama
4- cut-off
5- cat down tube

WIN۵۵،۲۱۲-۲ (۰، ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میکروگرم/ موش) دریافت کردند. به چهار گروه بعدی، بلافاصله پس از آموزش، اسکوپولامین (۲ میکروگرم/ موش) و در روز آزمون (پنج دقیقه قبل از آزمون) مقادیر مختلف ۲-WIN۵۵،۲۱۲ (۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میکروگرم/ موش) به صورت درون‌مغزی تزریق شد.

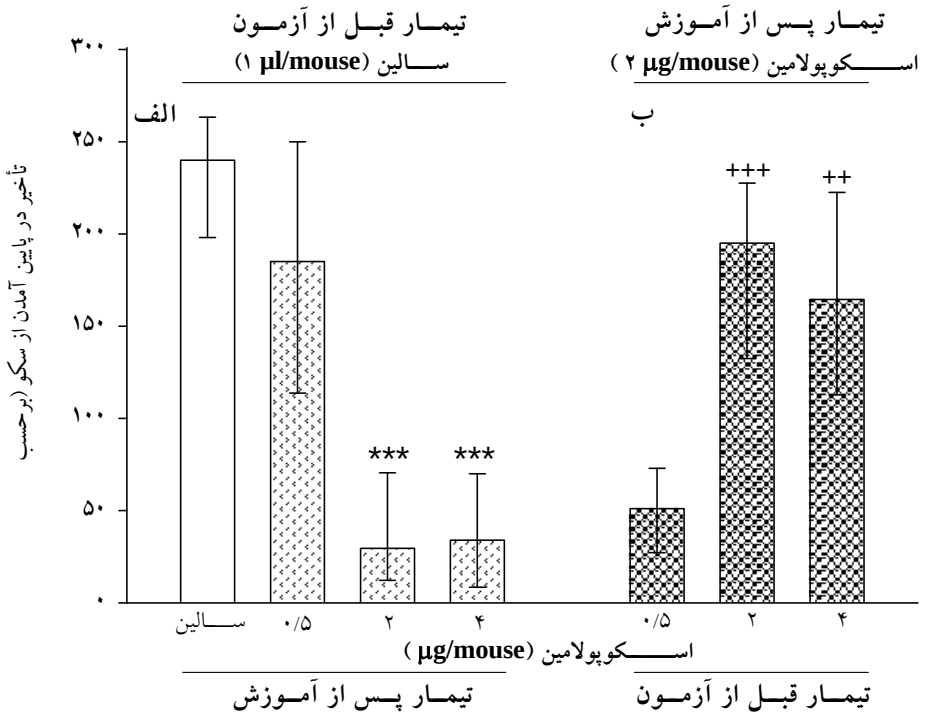
۳- آزمایش سوم- تأثیر تزریق درون‌مغزی اسکوپولامین و ۲-WIN ۵۵،۲۱۲، بر حافظهٔ اجتنابی تخریب شده با اسکوپولامین: در این آزمایش از پنج گروه حیوان استفاده شد. گروه اول در روز آموزش سالین (۱میکرولیتر/ موش) و در روز آزمون سالین همراه با حامل به صورت درون‌مغزی (intra-CA۱) دریافت کرد. به چهار گروه بعدی، بلافاصله پس از آموزش، اسکوپولامین (۲میکروگرم/ موش) و در روز آزمون به تر تیب حامل با سالین؛ ۲-WIN۵۵،۲۱۲ (۰/۵ میکروگرم/موش) با سالین یا اسکوپولامین (۰/۵میکروگرم/ موش) به‌علاوهٔ ۲-WIN۵۵،۲۱۲ (۰/۲۵ و ۰/۵ میکروگرم/ موش) تزریق شد.

یافته‌ها

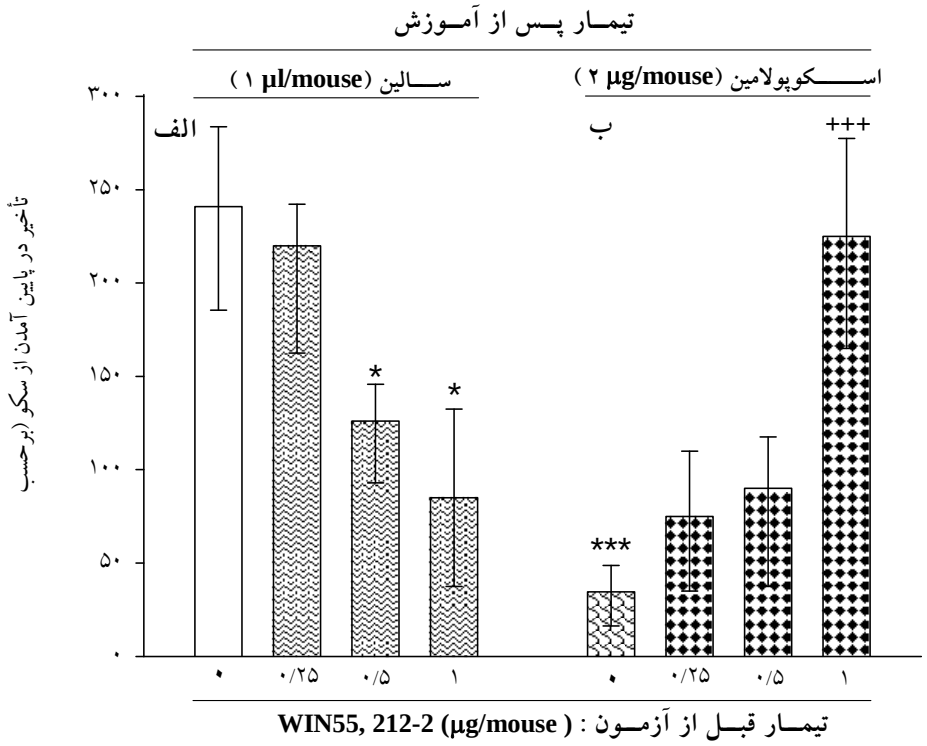
۱- آزمایش اول اثر تزریق پس از آموزش و پیش از آزمون اسکوپولامین بر حافظهٔ اجتنابی مهاری موش‌های آزمایشگاهی کوچک: آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفهٔ کروسکال- والیس نشان داد که تزریق پس از آموزش اسکوپولامین حافظه را تغییر می‌دهد ($p<۰/۰۰۱$، H(۴)=۲۲/۴۲). آزمون مکمل من- ویتنی نشان داد که تزریق درون هیپوکامپی اسکوپولامین (۲ و۴ میکروگرم/ موش) پس از آموزش، تأخیر در پایین آمدن از سکو یا به اصطلاح میزان حافظه را در ۲۴ ساعت بعد کاهش می‌دهد. به‌علاوه، استفاده از مقادیر مختلف اسکوپولامین پنج دقیقه قبل از آزمون، توانست حافظهٔ تخریب‌شده با اسکوپولامین روز آموزش را بهبود ببخشد ($p<۰/۰۰۱$، H(۳) =۲۱/۶۴). آزمون مکمل من- ویتنی نشان داد که تزریق درون‌مغزی اسکوپولامین (۲ و۴ میکروگرم/ موش) می‌تواند حافظهٔ تخریب‌شده را برگرداند .

۲- آزمایش دوم- اثر تزریق درون‌مغزی ۲-WIN۵۵،۲۱۲ قبل از آزمون، بر حافظهٔ تخریب‌شده با اسکوپولامین: آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفهٔ کروسکال- والیس نشان داد که تزریق پس از آموزش ۲-WIN۵۵،۲۱۲ حافظه را تغییر می‌دهد ($p<۰/۰۰۱$، ۱۴/۷۰= H(۳)). آزمون مکمل من ـ ویتنی نشان‌دهندهٔ آن بود که تزریق درون‌مغزی ۲-WIN۵۵،۲۱۲ (۰/۵ و ۱ میکروگرم/ موش) پس از آموزش، تأخیر در پایین رفتن از سکو یا به اصطلاح میزان حافظه را در ۲۴ ساعت بعد کاهش می‌دهد. آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفهٔ کروسکال- والیس نیز حاکی از آن بود که به کار بردن ۲-WIN۵۵،۲۱۲ قبل از آزمون می‌تواند حافظهٔ تخریب‌شده با تزریق بعد از آموزش اسکوپولامین را تغییر دهد ($p<۰/۰۰۱$، H (۳) = ۱۷/۰۳). آزمون مکمل من - ویتنی نشان داد که ۲-WIN۵۵،۲۱۲ (۱ میکروگرم/ موش) قادر است حافظهٔ تخریب‌شده با اسکوپولامین روز آموزش را اصلاح کند.

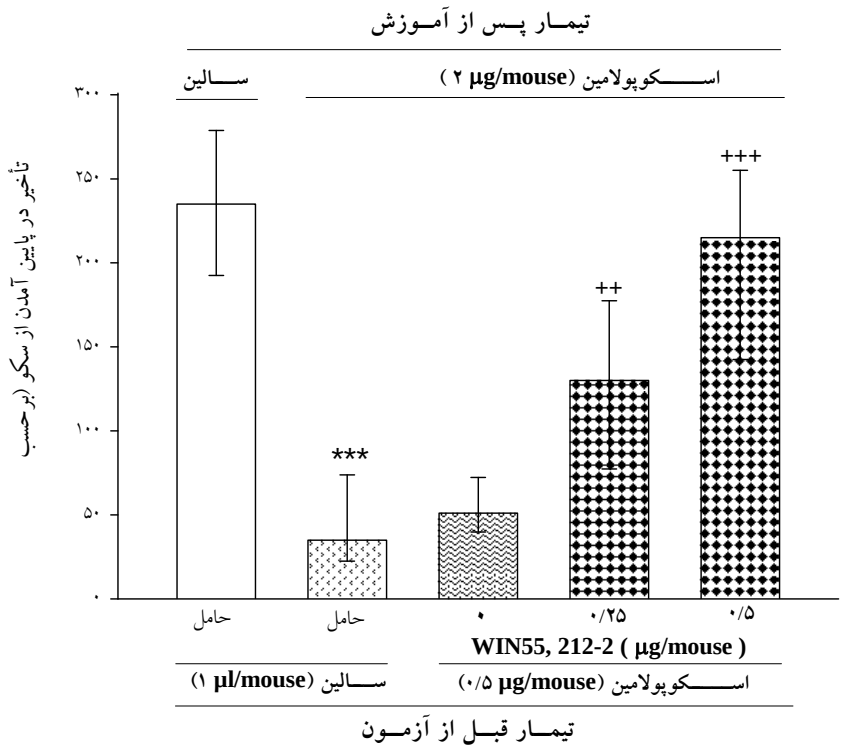
۳- آزمایش سوم - اثر تزریق همزمان مقادیر غیرمؤثر اسکوپولامین و ۲-WIN۵۵،۲۱۲، برحافظهٔ تخریب‌شده با اسکوپولامین: آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفهٔ کروسکال ـ والیس نشان داد که کاربرد همزمان مقادیر بی‌اثر اسکوپولامین و ۲-WIN۵۵،۲۱۲ قبل از آزمون می‌تواند حافظهٔ تخریب‌شده با اسکوپولامین روز آموزش (۲میکروگرم/ موش) را تغییر دهد ($p<۰/۰۰۱$، ۲۱/۰۶=H(۳)).آزمون مکمل من- ویتنی نشان داد که اسکوپولامین (۰/۵ میکروگرم/ موش) همراه با ۲-WIN۵۵،۲۱۲ (۰/۲۵ و ۰/۵ میکروگرم/ موش) می‌تواند حافظهٔ تخریب‌شده با اسکوپولامین روز آموزش را اصلاح کند.



شکل ۱– اثر اسکوپولامین روز آموزش بر حافظهٔ اجتنابی مهاری (پانل ـ الف) و اثر اسکوپولامین روز آزمون بر حافظهٔ اجتنابی مهاری تخریب‌شده با اسکوپولامین روز آموزش (پانل ـ ب). ***$p<$۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه سالین/ سالین و +++$p<$۰/۰۰۱، ++$p<$۰/۰۱ در مقایسه با اسکوپولامین / سالین می‌باشد.



شکل ۲– اثر تزریق پیش از آزمون ۲-WIN۵۵،۲۱۲ بر حافظهٔ اجتنابی تخریب‌شده با اسکوپولامین ***$p<$۰/۰۰۱، *$p<$۰/۰۵ در مقایسه با گروه سالین/ حامل و +++$p<$۰/۰۰۱ در مقایسه با اسکوپولامین / سالین می‌باشد.



شکل ۳- اثر تزریق همزمان اسکوپولامین و WIN۵۵،۲۱۲-۲ در روز آزمون بر حافظهٔ تخریب‌شده توسط اسکوپولامین . $p<۰/۰۰۱$ ***در مقایسه با گروه سالین/ حامل به علاوه سالین و $p<۰/۰۱$++، $p<۰/۰۰۱$+++ در مقایسه با اسکوپولامین/ حامل به علاوه سالین می‌باشد.

نتیجه‌گیری

از روش اجتنابی مهاری (غیر فعال) با مدل Step-down برای بررسی حافظهٔ موش‌های کوچک آزمایشگاهی استفاده می‌شود. یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که تزریق پس از آموزش آنتاگونیست غیر اختصاصی گیرنده‌های موسکارینی، اسکوپولامین، به هیپوکامپ پشتی موش‌های کوچک آزمایشگاهی به تخریب حافظهٔ اجتنابی مهاری در روز آزمون می‌انجامد. نتایج مطالعات حاضر همسو با مطالعاتی است که گزارش می‌دهد استیل‌کولین میانجی عصبی مهم در زمینهٔ حافظه و یادگیری است (بوکلند، ۱۹۹۵).

مطالعات فارماکولوژیکی نشان می‌دهند که اسکوپولامین باعث تخریب حافظه و یادگیری در مدل‌های مختلف یادگیری می‌شود و این تخریب مستقیماً با کاهش عملکرد سیستم کولینرژیک ارتباط دارد. بسیاری از مطالعات رفتاری نشان داده‌اند که تأثیرات آنتاگونیست موسکارینی کولینرژیک، بسیار شبیه تأثیرات ناشی از تخریب هیپوکامپ است (واتس[1]، استیونز[2] و روبینسون، ۱۹۸۱).

نتایج ما همچنین نشان می‌دهند که فراموشی القاشده با تزریق پس از آموزش اسکوپولامین به هیپوکامپ پشتی، با تزریق همان مقدار اسکوپولامین قبل از آزمون کاملاً مهار می‌شود. مشابه این پاسخ، برای مورفین (زرین‌دست و رضایوف، ۲۰۰۴)، لیتیوم (زرین‌دست و همکاران، ۲۰۰۸) و هیستامین (زرین‌دست و همکاران، ۲۰۰۵) وجود دارد که به آن یادگیری وابسته به وضعیت می‌گویند.

1- Watts 2- Stevens

یافته‌های ما حاکی از آن است که حافظهٔ تخریب‌شده با تزریق پس از آموزش اسکوپولامین، با تزریق پیش از آزمون WIN۵۵،۲۱۲-۲، دوباره به حالت عادی بر می‌گردد. این نتایج نشان می‌دهند که WIN۵۵،۲۱۲-۲ روز آزمون، اثر اسکوپولامین روز آزمون را تقلید می‌کند و باعث بهبود حافظهٔ تخریب‌شده با اسکوپولامین روز آموزش می‌شود. به‌علاوه، استفاده از مقادیر غیرمؤثر WIN۵۵،۲۱۲-۲ ، همراه با مقدار غیرمؤثر اسکوپولامین در روز آزمون، حافظهٔ تخریب‌شده با اسکوپولامین روز آموزش را بهبود می‌بخشد. به عبارت دیگر، اسکوپولامین و WIN۵۵،۲۱۲-۲ می‌توانند به صورت سینرژیک باعث بازگشت حافظهٔ تخریب‌شده با اسکوپولامین شوند . با توجه به این که یادگیری وابسته به وضعیت پدیده‌ای است که در آن به‌خاطرآوری اطلاعات یادگیری شده فقط در شرایطی امکان پذیر است که حیوان در همان شرایطی قرار بگیرد که در موقع آموزش قرار داشته است (شولز و همکاران، ۲۰۰۰)، این احتمال وجود دارد که WIN۵۵،۲۱۲-۲ و اسکوپولامین با استفاده از سازوکارهای مختلف شرایط فیزیولوژیک یکسان ایجاد نمایند.

توضیح دیگری که برای بازگشت حافظهٔ تخریب‌شده با اسکوپولامین روز آموزش به وسیلهٔ WIN۵۵،۲۱۲-۲ روز آزمون وجود دارد، این است که اثر داروهایی که در روز آزمون و قبل از آزمون حافظه به حیوان تزریق می‌شود، در تمامی شرایط یکسان نیست و به شرایطی که اطلاعات در آن ذخیره شده است، بستگی دارد. به طوری که ممکن است داروهایی که باعث تخریب حافظهٔ حیوانات دارای حافظهٔ کامل می‌شود، باعث تقویت حافظهٔ حیواناتی شودکه قبلاً حافظهٔ آنها با داروی دیگری تخریب‌شده است (یانگ[1] و همکاران، ۲۰۰۳). اگر برداشت فوق درست باشد، با توجه به این که آگونیست‌های گیرنده‌های کانابینوئیدی (مانند WIN۵۵،۲۱۲-۲)، باعث تخریب حافظهٔ حیوانات با حافظهٔ کامل می‌شود (دیویز[2]، پرتوی و ریدل، ۲۰۰۲)، این احتمال وجود دارد که تزریق آن در روز آزمون باعث بهبود حافظهٔ موش‌هایی شودکه حافظهٔ آنها با تزریق اسکوپولامین در روز آموزش تخریب‌شده است.

با توجه به بازگشت حافظهٔ تخریب‌شده با اسکوپولامین به وسیلهٔ WIN۵۵،۲۱۲-۲، می‌توان بیان داشت که بین سیستم کانابینوئیدی و گیرنده‌های موسکارینی استیل‌کولین هیپوکامپ پشتی در زمینهٔ حافظهٔ اجتنابی مهاری برهم‌کنش وجود دارد و آگونیست گیرندهٔ کانابینوئیدی قادر است اثر آنتاگونیست غیراختصاصی موسکارینی اسکوپولامین را تقلید کند.

دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۱۰/۱۷؛ پذیرش مقاله: ۱۳۸۹/۱/۱۹

1- Yang 2- Davies

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.

Bartus, R. T. (2000). On neurodegenerative diseases, models, and treatment strategies: Lessons learned and lessons forgotten a generation following the cholinergic hypothesis. *Experimental Neurology, 163*(2), 495-529.

Blokland, A. (1995). Acetylcholine: A neurotransmitter for learning and memory? *Brain Research Reviews, 21*(3), 285-300.

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., Lanziotti, V. B., & Quillfeldt, J. A. (2005). Amnestic effect of intrahippocampal AM251, a CB1-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.

Fadda, P., Robinson, L., Fratta, W., Pertwee, R. G., & Riedel, G. (2006). Scopolamine and MK801-induced working memory deficits in rats are not reversed by CBD-rich cannabis extracts. *Behavioural Brain Research, 168*(2), 307-311.

Hasselmo, M. E. (1999). Neuromodulation: Acetylcholine and memory consolidation. *Trends in Cognitive Sciences, 3*(9), 351-359.

Hiramatsu, M., Sasaki, M., & Kameyama, T. (1995). Effects of dynorphin A-(1–13) on carbon monoxide-induced delayed amnesia in mice studied in a stepdown type passive avoidance task. *European Journal of Pharmacology, 282*(1-3), 185–191.

Homayoun, H., Khavandgar, S., & Zarrindast, M. R. (2003). Morphine state-dependent learning: Interactions with ά2-adrenoceptors and acute stress. *Behavioiral Pharmacology, 14*(1), 41–48.

Izquierdo, I., & Medina, J. H. (1997). Memory formation: The sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures. *Neurobiology of Learning and Memory, 68*(3), 285-316.

McGaugh, J. L., & Izquierdo, I. (2000). The contribution of pharmacology to research on the mechanisms of memory formation. *Trends in Pharmacological Sciences, 21*(6), 208-210.

Paxinos, G., & Franklin, K. B. J. (2001). *The mouse brain in stereotaxic coordinates*. San Diegi: Academic Press.

Ryberg, E., Larsson, N., Sjogren, S., Hjorth, S., Hermansson, N. O., Leonova, J., Elebring, T., Nilsson, K., Drmota, T., & Greasley, P. J. (2007). The orphan receptor GPR55 is a novel cannabinoid receptor. *British Journal of Pharmacology, 152*(7), 1092-1101.

Schlicker, E., & Kathmann, M. (2001). Modulation of transmitter release via presynaptic cannabinoid receptors. *Trends Pharmacological Sciences, 22*(11), 565-572.

Shulz, D. E., Sosnik, R., Ego, V., Haidarliu, S., & Ahissar, E. (2000). A neuronal analogue of state-dependent learning. *Nature, 403*(6769), 549-553.

Thiemann, G., Fletcher, B. C., Ledent, C., Molleman, A., & Hasenohrl, R. U. (2007). The genetic versus pharmacological invalidation of the cannabinoid CB_1 receptor results in differential effects on 'non-associative' memory and forebrain monoamine concentrations in mice. *Neurobiology of Learning Memory, 88(*4), 416-423.

Watts, J., Stevens, R., & Robinson, C. (1981). Effects of scopolamine on radial maze performance in rats. *Physiology and Behaviour, 26*(5), 845-851.

Yang, Y., Cao, J., Xiong, W., Zhang, J., Zhou, Q., Wei, H., Liang, C., Deng, J., Li, T., Yang, S., & Xu, L. (2003). Both stress experience and age determine the impairment or enhancement effect of stress on spatial memory retrieval. *Journal of Endocrinology, 178*(1), 45-54.

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 Psychopharmacology, 16*(4), 313-319.

Zarrindast, M. R., Fazli-Tabaei, S., Khalilzadeh, A., Farahmanfar, M., & Yahyavi, S. H. (2005). Cross state-dependent retrieval between histamine and lithium. *Physiology and Behaviour, 86*(1-2), 154-163.

Zarrindast, M. R., Madadi, F., & Ahmadi, S. (2008). Repeated administrations of dopamine receptor agents affect lithium-induced state-dependent learning in mice. *Journal of Psychopharmacology, 23*(6), 645-651.

Zarrindast, M. R., & Rezayof, A. (2004). Morphine state-dependent learning: Sensitization and interactions with dopamine receptors. *European Journal of Pharmacology, 497*(2), 197-204.