Original Article

Effect of alcoholic extract of *Cannabis sativa* leave on neuronal density of CA1, CA2 and CA3 regions of rat hippocampus

Tehranipour M, Kehtarpour M*

Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Mashhad Branch, Mashhad, I. R. Iran.

Received August 7, 2010; Accepted October 23, 2011

Abstract:

Background: Neuronal connections change during the memory formation process. The purpose of this study was to evaluate the effect of alcoholic extract of *Cannabis sativa* leave on the neuronal density of CA1, CA2 and CA3 regions of rat hippocampus.
Materials and Methods: In this experimental study, 24 male Wistar rats (300-350 g) were divided into two experimental and one control groups. *Cannabis sativa* seed was extracted using Soxhlet apparatus and then was injected in different doses (50 and 25 mg/kg, i.p, respectively) once a week for three weeks. After one month, rats were decapitated and their brain dissected, fixed in formalin (10%), sectioned (7µm thickness) and then stained with H & E. By applying dissection techniques and systematic random sampling scheme, the neuronal density of CA1, CA2, CA3 regions of hippocampus were estimated.
Results: Statistical analyses showed a significant decrease in the neuronal density of CA1 region, while there was a significant increase in the neuronal density of CA2 and CA3 regions of hippocampus in the experimental group (25 mg/kg alcoholic extract) compared to the control group (P=0).
Conclusion: It seems that the normal dose of alcoholic extract of *Cannabis sativa* leave induces neuronal degeneration in CA1 region of the hippocampus, while a low dose of it induces a neurogenesis in other hippocampal regions.

Keywords: *Cannabis sativa*, Memory, Hippocampus

* **Corresponding Author.**
Email: kehtarpourmaryam@yahoo.com
Tel: 0098 511 882 8717
Fax: 0098 511 864 4050

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences September, 2012; Vol. 16, No 4, Pages 297-303

Please cite this article as: Tehranipour M, Kehtarpour M. Effect of alcoholic extract of *Cannabis sativa* leave on neuronal density of CA1, CA2 and CA3 regions of rat hippocampus. ***Feyz*** 2012; 16(4): 297-303.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-11-01]

بررسی اثر عصاره الکلی برگ گیاه *Cannabis sativa* بر تراکم نورونی مناطق CA1، CA2، و CA3 هیپوکامپ در موش صحرایی نر

مریم طهرانی پور[1]، مریم کهترپور[2*]

خلاصه:

سابقه و هدف: در شکل‌گیری حافظه ارتباطات بین نورونی تغییر می‌کند. هدف از این تحقیق بررسی اثر عصاره الکلی برگ گیاه Cannabis sativa بر دانسیته نورونی نواحی CA1، CA2، و CA3 هیپوکامپ موش صحرائی نر می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق تجربی ۲٤ راس موش نر نژاد ویستار با وزن تقریبی ۳۵۰-۳۰۰ گرم، به سه گروه تجربی ۱ و تجربی ۲ و گروه شاهد تقسیم شدند. عصاره الکلی برگ گیاه شاهدانه با روش سوکسله تهیه شد و در گروه‌های تجربی به‌ترتیب با دوزهای ۲۵ mg/kg و ۵۰ mg/kg به‌روش داخل صفاقی برای مدت ۳ هفته (هر هفته یک‌بار) تزریق شد. پس از یک‌ماه حیوانات با رامپون و کتامین بیهوش شده، مغز به آرامی از جمجمه خارج شده و در فرمالین نمکی ۱۰ درصد فیکس شد. پس از طی مراحل پاساژ بافتی، برش‌های سریال ۷ میکرونی با هماتوکسیلین ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. سپس از نواحی CA1، CA2، CA3 عکسبرداری شده و به روش دایسکتور تراکم نورونی بررسی گردید.

نتایج: آنالیزهای آماری کاهش معنی‌داری در تراکم نورونی نواحی CA1 و افزایش معناداری در تراکم نورونی نواحی CA2 و CA3 گروه تجربی دریافت کننده عصاره با دوز ۲۵ mg/kg نسبت به گروه کنترل نشان داد (P=۰).

نتیجه‌گیری: احتمال می‌رود عصاره الکلی برگ گیاه شاهدانه موجب تخریب نورونی در ناحیه CA1 شده، درحالی که در بعضی مناطق دوز پایین این ماده نوعی نورون‌زائی القا کرده است.

واژگان کلیدی: Cannabis sativa، حافظه، هیپوکامپ

دو ماه‌نامه علمی– پژوهشی فیض، دوره شانزدهم، شماره ٤، مهر و آبان ۱۳۹۱، صفحات ۳۰۳-۲۹۷

مقدمه

یادگیری و حافظه با انتقال محرک‌های محیطی از طریق حواس ویژه که بالاخره در مغز به ردهای حافظه یا رابطهای حافظه تبدیل می‌گردند، آغاز می‌شود. وقتی مغز اطلاعات را دریافت می‌کند یک تکانه الکتریکی یا شیمیایی از نورون عبور کرده و پیدایش روابط سیناپسی و افزایش آن را موجب می‌گردد [۱]. تغییر در سیناپس، اساس عصبی یادگیری می‌باشد. نتیجه این تغییر ساختاری این است که سیناپس کارآمدتر می‌شود. در طی شکل‌گیری یادگیری و حافظه ارتباطات بین نورون‌ها (سیناپس) از نظر قدرت تغییر می‌یابد؛ هم‌چنین، فراخوانی مکرر یک خاطره موجب ثبات آن می‌گردد.

[1] استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد

[2] کارشناس ارشد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد

*نشانی نویسنده مسئول:

استان خراسان رضوی، مشهد، اداره آموزش و پرورش شهرستان مشهد، ناحیه ۶، آموزشگاه حضرت زینب

تلفن: ۰۵۱۱ ۸۸۲۸۷۱۷ دورنویس: ۰۵۱۱ ۸۶۴۴۰۵۰

پست الکترونیک: kehtarpourmaryam@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۹/۵/۱۶ تاریخ پذیرش نهایی: ۹۰/۸/۱

کلید ایجاد حافظه تغییر در قدرت ارتباطات سیناپسی می‌باشد [۱]. در واقع حافظه‌ها در سیناپس‌ها ذخیره می‌شوند [۲]. پایه‌های نورو-بیولوژیک یادگیری در ساختمان‌هایی از مغز قرار دارد که با شکل-گیری و ذخیره اطلاعات رابطه دارد. این ساختمان‌ها شامل هیپوکامپ، قشر مغز و مخچه می‌باشد [۱]. به علت مشابهت جسم هیپوکامپ به شاخ بز کوهی، گذشتگان آنرا شاخ آمون نامیده‌اند. در سال ۱۹۳٤ جسم هیپوکامپ را به چهار ناحیه تقسیم و آن را با اختصارات CA (CA4 تا CA1) نام‌گذاری کردند، اما امروزه از تقسیم‌بندی de NO در مورد هیپوکامپ استفاده می‌شود [۳]. نقش هیپوکامپ در تثبیت حافظه کاملا شناخته شده است؛ چنانچه هیپوکامپ آسیب ببیند شخص از ذخیره اطلاعات عاجز می‌ماند، اما اطلاعات قدیمی‌تر که قبلا تثبیت شده‌اند دست نخورده و قابل استفاده باقی می‌ماند [٤]. گیاه شاهدانه در زبان انگلیسی کانابیس و در زبان اسپانیایی ماری جوانا نامیده می‌شود. این گیاه یک‌ساله و لیفی است و معمولا به‌طور خودرو در مناطق گرمسیری می‌روید. سه ماده اصلی که از کانابیس تهیه می‌شود ماری جوانا، حشیش و روغن حشیش می‌باشد [۵]. ماری جوانا از جوانه و برگ گیاه خشک شده کانابیس، حشیش صمغ متراکم و خشک شده گل‌های کانابیس و روغن حشیش از راه جوشاندن گل‌ها یا صمغ کانابیس

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-11-01]

در حلال آبی به‌دست می‌آید [۷،٦]. از گیاه کانایس تاکنون بیش از ٦١ ماده شیمیایی به‌دست آمده که همه کانابینوئید نامیده می شوند. اصلی‌ترین ماده کانابینوئید دلتا ۹ تتراهیدروکانابینول یا Δ۹-THC و یا THC می‌باشد. THC با اتصال به گیرنده‌های کانابینوئیدی در مغز به‌عنوان مسئول بیشتر آثار روان‌گردانی کانابیس به شمار می‌رود [۸،۷]. مقدار THC در بخش‌های مختلف گیاه متفاوت است. مقدار THC در سرشاخه‌های گلدار گیاه در بالاترین حد است و به‌ترتیب در برگ‌ها، برگ‌های تحتانی ساقه و دانه‌های گیاه کاهش می‌یابد [۷]. تاثیرات مواد کانابینوئیدی بر بدن به عوامل متعددی بستگی دارد که از جمله مقدار مصرف دارو و مدت زمان مصرف دارو را می‌توان نام برد [۹،۷]. کانابینوئیدها از طریق رسپتورهای CB1 و CB2 اعمال فیزیولوژیک خود را انجام می‌دهند و به دنبال کشف این رسپتورها، اندوکانابینوئیدها نیز کشف شدند [۹]. مطالعات مختلف حضور گیرنده CB1 را در نواحی از مغز از جمله هیپوکامپ، کورتکس، مخچه، سیستم لیمبیک، تالاموس و هیپوتالاموس تائید کرده است [۱۰]. هم‌چنین، حضور رسپتور CB2 در سلول‌های سیستم ایمنی، کبد، ریه، بیضه‌ها و اخیرا در تنه مغزی [۱۱] نشان داده شده است. بنابراین احتمال اثر کانابینوئیدها بر این سلول‌ها وجود دارد [۱۰]. تاکنون مطالعاتی پیرامون شناسایی عملکرد گیرنده‌های کانابینوئیدی در ساختارهای سیستم عصبی به انجام رسیده و با توجه به شناسایی و توسعه آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌ها درک عمیق‌تری از نقش فیزیولوژیک سیستم اندوکانابینوئیدی پیدا خواهد شد که در نهایت پیشرفت‌هایی در زمینه داروهای خواب آور، حفاظت عصبی، ضد تشنج، یادگیری، تقویت حافظه و کاهش اثرات آلزایمر در افراد مسن نیز شناسایی شده است [۱۱]. با توجه به موارد کاربرد فراوان این گیاه در پزشکی به‌خصوص استفاده از آن در بیماری‌های سیستم عصبی [۱۱] در این مقاله سعی شده اطلاعات بیشتری در جهت تکمیل دانستنی‌های قبل در زمینه اثرات کانابینوئیدها بر قسمت‌های مختلف هیپوکامپ و تاثیر میزان دوز عصاره مصرفی و مدت زمان مصرف آن شناسایی شود. هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر عصاره الکلی برگ گیاه شاهدانه بر تراکم نورونی مناطق CA1، CA2، و CA3 هیپوکامپ موش صحرایی نر است.

مواد و روش‌ها

گیاه شاهدانه در گناباد جمع‌آوری شده و در آزمایشگاه گیاه شناسی دانشگاه آزاد مشهد با کد هرباریمی ۲٥٤۸ مربوط به گونه کانابیس ساتیوا شناسایی شد. برگ گیاه خشک شاهدانه برای هر نوبت عصاره‌گیری در همان روز کاملا آسیاب گردید و عصاره‌گیری الکلی برگ گیاه به روش سوکسله انجام گرفت. برای این کار ٥۰ گرم پودر خشک برگ شاهدانه را ابتدا داخل کاغذ مخصوص کارتوش ریخته، در دستگاه قرار داده و از ٤٥۰ سی سی الکل به‌عنوان حلال استفاده می‌شود. در پایان عصاره گیری از عصاره الکلی، حذف حلال صورت گرفت [۱۲]. این مطالعه از نوع تجربی بوده و برای انجام آزمایشات ٢٤ سر موش صحرائی نژاد ویستار با سن تقریبی ۸ هفته و وزن ۳٥۰-۳۰۰ گرم از موسسه رازی مشهد خریداری گردید. همه حیوانات در دمای ۲۳-۲٥ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ٥۰ درصد و سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی در اتاق حیوانات دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد نگهداری شدند. در طول آزمایش حیوانات به آب و غذای استاندارد کافی دسترسی داشتند. در این آزمایش موش‌ها به سه گروه تجربی ۱، تجربی ۲ و گروه شاهد تقسیم شدند. پس از تهیه عصاره الکلی برگ گیاه کانابیس ساتیوا در گروه‌های تجربی به‌ترتیب با دوزهای mg/kg ۲٥ و mg/kg ٥۰ [۱۳] به‌روش داخل صفاقی (I.P.) به مدت ۳ هفته (هر هفته یک بار) عصاره تزریق شد و به گروه شاهد نرمال سالین تزریق گردید. پس از گذشت یک ماه از تاریخ اولین تزریق عصاره حیوانات با رامپون و کتامین به روش درون صفاقی به نسبت وزن بدن (٦ و ٦۰ mg/kg) بیهوش شدند و با استفاده از متد پرفیوژن ابتدا حیوان را تا حدی فیکسه کرده، سپس مغز به آرامی از جمجمه خارج شده و در فرمالین نمکی ۱۰ درصد قرار داده شد. نمونه‌های تهیه شده به‌مدت دو هفته درون فیکساتور قرار گرفته و پس از آن وارد مراحل پاساژ بافتی شدند که شامل سه مرحله: آبگیری از بافت (با استفاده از الکل)، شفاف سازی (توسط زایلن) و مرحله آغشتگی با پارافین می‌باشد [١٤]. برش‌گیری با استفاده از دستگاه میکروتوم انجام شد؛ به‌طوری که از مغز برش‌های سریال ۷ میکرونی تهیه شده، برش‌ها به‌طور ساجیتال بودند و به‌صورت سریال از اولین برش ۲۱۰ برش ۷ میکرونی دور ریخته شد و سپس از هر ۳۰ برش ۳ برش متوالی بر روی لام قرار داده شد. لام‌ها توسط قلم الماسه شماره‌گذاری شدند و با هماتوکسیلین ائوزین رنگ‌آمیزی گردیدند. در مرحله بعدی با استفاده از دستگاه فتومیکروسکوپ از مناطق CA1، CA2، و CA3 هیپوکامپ عکسبرداری شد؛ عکس‌ها از دو برش متوالی تهیه گردید و به طریقه دایسکتور تراکم نورونی بررسی شده و با گروه کنترل مقایسه شدند. روش دایسکتور به این صورت بود که در یک چهارچوب مرجع نورون‌ها شمارش می‌گردیدند. اگر نورونی در هر دو چهار چوب باشد در شمارش محسوب نمی‌شود، اما اگر نورونی در چهارچوب مرجع باشد ولی در چهار چوب بعدی نباشد، شمارش می‌شود [١٤].

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-11-01]

پس از شمارش نورون‌ها تراکم نورونی این‌گونه محاسبه گردید:

$ND=\Sigma Q/\Sigma frame \times V\ dissector$

که در آن، ΣQ: مجموع نورون‌های شمارش شده در یک نمونه است؛ Σframe: مجموع دفعات نمونه برداری شده در یک نمونه می‌باشد؛ و V disecector: حجم چهار چوب نمونه‌برداری است که برابر است با: $V\ dissector= A\ frame \times H$

A frame: مساحت چهار چوب نمونه برداری است؛ و H: فاصله بین دو برش متوالی یا ضخامت هر برش می‌باشد.

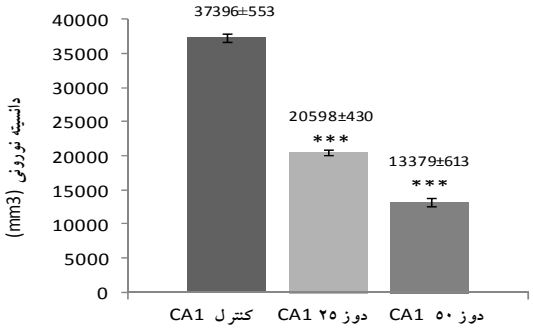
پس از به‌دست آوردن ND، داده‌ها با آزمون آماری ANOVA تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری آزمون‌ها $P<۰/۰۰۱$ در نظر گرفته شد. هم‌چنین، از آزمون ناپارامتری Man-whitney استفاده شد.

نتایج

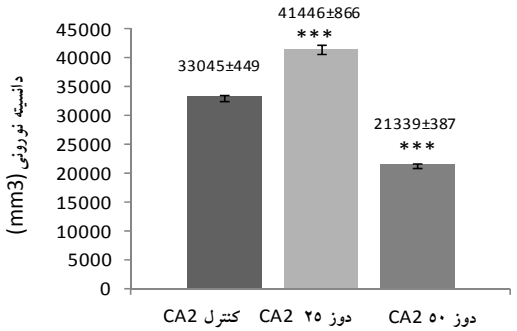
مقایسه میانگین تراکم نورونی هیپوکامپ در گروه‌های مختلف نشان داد که در ناحیه CA1 گروه کنترل میزان تراکم نورونی ۳۷۳۹۶±۵۵۳، در گروه تیمارشده با عصاره الکلی دوز ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۲۰۵۹۸±۴۳۰، و در گروه تیمار شده با عصاره الکلی دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، ۱۳۳۷۹±۶۱۳ می‌باشد که از نظر مقایسه میانگین‌ها بین گروه کنترل و سایرگروه‌ها تفاوت معناداری مشاهده شد (نمودار شماره ۱) ($P=۰$). هم‌چنین، میانگین تراکم نورونی در ناحیه CA2 گروه کنترل ۳۳۰۴۵±۴۴۹، در گروه تیمار شده با عصاره الکلی دوز ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۴۱۴۴۶±۸۶۶ و گروه تیمار شده با عصاره الکلی دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۲۱۳۳۹±۳۸۷ می‌باشد که از نظر میانگین‌ها بین گروه کنترل و دو گروه تیمار شده تفاوت معناداری مشاهده شد (نمودار شماره ۲) ($P=۰$). به‌علاوه، میانگین تراکم نورونی در ناحیه CA3 گروه کنترل ۲۶۳۲۴±۴۳۷، در گروه تیمار شده با عصاره الکلی دوز ۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۳۲۲۹۸±۹۴۸ و گروه تیمار شده با عصاره الکلی دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ۱۶۶۸۳±۵۲۰ می‌باشد که از نظر مقایسه میانگین‌ها بین گروه کنترل و دو گروه تیمار شده تفاوت معناداری وجود دارد (نمودار شماره ۳) و $P=۰$. مقایسه گروه کنترل با گروه‌های تیمارشده بخش‌های مختلف هیپوکامپ نشان می‌دهد که تزریق عصاره الکلی برگ این گیاه با دوز ۲۵ mg/kg اثر افزایشی در نواحی CA2، CA3 داشته است (جدول شماره ۱). آنالیز داده‌ها با آزمون Man-Whitney نیز نتایج فوق را تایید کرد ($P=۰/۰۰۰۹$).

جدول شماره ۱- مقایسه نتایج شمارش نورونی مناطق CA1، CA2، و CA3 هیپوکامپ در گروه کنترل و تیمار شده عصاره الکلی دوزهای (۲۵ و ۵۰ mg/kg)

	خطای معیار± میانگین		
	CA3	CA2	CA1
کنترل	۲۶۳۲۴±۴۳۷	۳۳۰۴۵±۴۴۹	۳۷۳۹۶±۵۵۳
عصاره الکلی دوز ۲۵	۳۲۲۹۸±۹۴۸	۴۱۴۴۶±۸۶۶	۲۰۵۹۸±۴۳۰
عصاره الکلی دوز ۵۰	۱۶۶۸۳±۵۲۰	۲۱۳۳۹±۳۸۷	۱۳۳۷۹±۶۱۳
مقایسه اثر عصاره الکلی در مناطق مختلف هیپوکامپ	اثر افزایشی در دوز ۲۵(mg/kg)	اثر افزایشی در دوز ۲۵(mg/kg)	اثر کاهشی در دوزهای ۲۵ و ۵۰ (mg/kg)

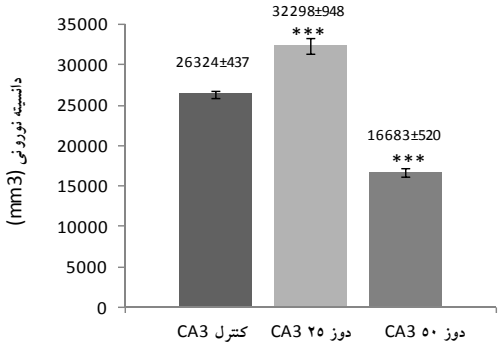


نمودار شماره ۱- مقایسه تراکم نورونی ناحیه CA۱ در گروه کنترل با دو گروه تیمارشده با عصاره الکلی دوز ۲۵ و ۵۰ (mg/kg) (n=۸)، (CI=%95) (P=۰) معادل ***



نمودار شماره ۲- مقایسه تراکم نورونی ناحیه CA۲ در گروه کنترل با دو گروه تیمارشده عصاره الکلی دوز ۲۵ و ۵۰ (mg/kg) (n=۸)، (CI=%95) (P=۰) معادل ***

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-11-01]



نمودار شماره ۳- مقایسه تراکم نورونی ناحیه CA۳ در گروه کنترل با دو گروه تیمارشده عصاره الکلی دوز ۲۵ و ۵۰ (mg/kg) (n=۸)، (CI=%95) (P=۰) معادل ***

بحث

در این تحقیق سعی شده است تا اثرات عصاره الکلی برگ گیاه کانابیس ساتیوا بر مناطق سه گانه هیپوکامپ بررسی شود. همان‌طور که در قسمت نتایج مشاهده شد تراکم نورونی ناحیه CA1 هیپوکامپ نسبت به گروه کنترل کاهش چشمگیری داشته است. این در حالی است که تزریق عصاره الکلی با دوز ۲۵ mg/kg این گیاه، اثر افزایشی و با دوز mg/kg ۵۰، اثر کاهشی بر تراکم نورونی ناحیه CA2، CA3 داشته است. در واقع کانابینوئیدهای درونی و بیرونی به‌منظور اعمال محافظت نورون در مدل‌های آزمایشگاهی و طبیعی از مکانیسم‌های زیر استفاده می‌کنند: جلوگیری از مسمومیت نورونی با استفاده از جلوگیری از آزاد سازی گلوتامات، کاهش نفوذ کلسیم، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، افزایش بیان فاکتورهای نروتروفیک، کاهش التهاب و افزایش خون رسانی به محل آسیب دیده [۱۵]. به‌نظر می‌رسد احتمالا کانابینوئیدها با استفاده از هر یک از مکانیسم‌های ذکر شده به لحاظ بالینی مولکول‌های محافظ نورونی می‌باشند و بدین جهت است که تراکم نورونی در گروه‌های تیمار شده با عصاره الکلی برگ گیاه شاهدانه با دوز mg/kg ۲۵ در ناحیه CA2، CA3 افزایش یافته است. Solowiji 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 می‌باشد. در واقع این دانشمندان نشان دادند که گیاه شاهدانه اثرات وابسته به دوز دارد [۹]. همان‌طور که نمودار شماره ۲ و ۳ نشان می‌دهد تزریق عصاره الکلی برگ گیاه شاهدانه در ناحیه CA2، CA3 هیپوکامپ با دوز mg/kg ۲۵ باعث افزایش تراکم نورونی در این ناحیه شده است؛ این در حالی است که با افزایش میزان دوز عصاره، نتیجه معکوس شده و کاهش نورونی را داشته‌ایم. به‌نظر می‌رسد عصاره برگ گیاه مورد استفاده اثرات نوروپروتکتیو وابسته به دوز دارد؛ به‌طوری که آنالیز نتایج نشان می‌دهد تزریق عصاره با دوز پایین‌تر آثار نوروپروتکتیو قوی‌تری ایجاد می‌کند. چهار جزء از عصاره گیاه کانابیس ساتیوا شناسایی شده است. یکی از این اجزا کانابینوئیدول است که متاسفانه کانابینوئیدل می‌تواند پتانسیل‌های درمانی مفید این گیاه را محدود کند؛ به‌طوری که منجر به ذخیره پتاسیم خارج سلولی شده که در طی تحریکات، پتاسیم به خارج از سلول‌ها هدایت می‌شود. در حقیقت عصاره گیاه کانابیس ساتیوا اثرات افسردگی و اختلالات یادگیری را نشان می‌دهد [۱۶]. علاوه بر این، اثبات شده است که کانابینوئیدهای روانگردان فعالیت نورون‌های دوپامینرژیکی را در مسیر ونتروتگمنتال افزایش می‌دهند. مسیر ونتروتگمنتال ناحیه‌ای در سیستم مزولیمبوکورتیکال است و در واقع این ناحیه یکی از سیستم‌های دوپامینرژیکی مهم در ساقه مغز است. نورون‌های دوپامینرژیکی در این مسیر تحت کنترل عملکرد بازدارندگی اینترنورون‌های گاباارژیک هستند. مهار گابا به‌وسیله گیرنده‌های اپیوئیدی باعث افزایش آزادسازی دوپامین در پایانه‌های نورون‌های دوپامینرژیک در هسته آکومبنس می‌شود [۱۷]. بررسی‌ها نشان داده است که کانابینوئیدها از جمله دلتا ۹ تتراهیدروکانابینول ماده موثره این گیاه، فعالیت دوپامین را در مسیرمزولیمبیک از ونتراتگمنتال به هسته آکومبنس افزایش می‌دهد [۱۷]. هسته‌های آکومبنس پایانه‌های مهمی از فیبرها را دارا هستند و اهمیت ویژه‌ای در مصرف داروهای اعتیادآور دارد [۱۷]. کانابینوئیدها نیز آزادسازی دوپامین را در هسته آکومبنس افزایش می‌دهند؛ البته مکانیسم آن ناشناخته است. شواهد نشان داده که ماده موثره گیاه کانابیس ساتیوا Δ۹-THC غلظت دوپامین را به‌ویژه در نواحی قشری هسته آکومبنس افزایش می‌دهد؛ به‌طوری که این افزایش در خود هسته‌ها دیده نمی شود و این به خاطر وجود گیرنده‌های CB1 در نواحی قشری هسته آکومبنس است [۱۷]. در بررسی حاضر تخریب نورونی در ناحیه هیپوکامپ نیز ممکن است به‌دلیل افزایش فعالیت نورون‌های دوپامینرژیکی در مسیر ونتروتگمنتال باشد زیرا آوران‌های مهمی از ساقه مغز به هیپوکامپ می‌رسند [۱۹،۱۸]. هم‌چنین، نشان داده شده است که در اثراستعمال کانابینوئیدها آزادسازی دوپامین افزایش می‌یابد و دوپامین در فضای خارج سلولی آزاد شده و منجر به بالابردن سطح دوپامین خارج سلولی می‌شود و از فعالیت رسپتورهای آلفاآدرنرژیک به‌وسیله دوپامین جلوگیری می‌شود [۲۰]. از طرف دیگر منابع کلسیم خارج سلولی با آزادسازی کلسیم تهی شده و با خالی شدن منابع کلسیم، گیرنده‌های گلوتاماتی متابوتروپیک نوع ۱ از فعالیت سیناپسی جلوگیری می‌کنند. در واقع نورون‌های دوپامینی ایمپالس-

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-11-01]

های مهاری IPSP را تولید می‌کنند [۲۰]. نشان داده شده است که THC در گیرنده‌های اپیوئیدی موجب تسهیل در آزادسازی دوپامین می‌شود [۲۲-۲۰]. سیستم کانابینوئیدی درون‌زاد موجب ضعف در یادآوری می شود که البته مکانیسم آن به‌خوبی شناخته نشده است، اما مشخص شده است که اندوکانابینوئیدها بر گیرنده-های CB1 در آمیگدال و سیستم لیمبیک اثر می‌گذارند و از طریق یک تاثیر مهاری بر روی شبکه‌های نورونی (توسط نورون‌های GABA) موجب کمبود حافظه می‌شوند [۲۴،۲۳]. پس احتمال می‌رود کانابینوئیدهای برون‌زاد هم پس از ورود با اثر بر رسپتورهای CB1 ایجاد کننده یک اثر مهاری بر نورون‌ها باشند و کاهش حافظه را به دنبال داشته باشند. آگونیست گیرنده‌های کانابینوئیدی سبب تخریب حافظه می‌شود و از طرفی اندوکانابینوئیدها از نورون‌های پس سیناپسی آزاد می‌شوند و آزادسازی نروترنسمیترها را کاهش می‌دهند [۲۵]. برخی مطالعات حضور گیرنده‌های CB1 را در پایانه آکسونی نورون‌های گلوتاماتی هیپوکامپ نشان می‌دهند، بنابراین این احتمال وجود دارد که تخریب حافظه توسط آگونیست گیرندهای CB1 به‌واسطه رهایش گلوتامات در هیپوکامپ صورت گیرد [۲۶،۲۵]. در نهایت می‌توان گفت کاهش تراکم نورونی در ناحیه CA1 نسبت به نواحی CA2 و CA3 هیپوکامپ در برابر عصاره الکلی برگ گیاه کانابیس ساتیوا ممکن است به‌دلیل وجود عملکرد نوروترنسمیتر مهاری گابا و افزایش دوپامین در این ناحیه نسبت به نواحی CA2 و CA3 هیپوکامپ باشد. تحقیقات نشان داده است جایگاه‌های اتصالی گابا به میزان بیشتری در ناحیه CA1 هیپوکامپ نسبت به دیگر بخش‌های آن متمرکز شده‌اند [۱۹،۱۸] و اتصال گیرنده‌های CB1 با ماده موثره عصاره برگ گیاه شاهدانه، مهار تعداد زیادی از اینترنورون‌های گابا را سبب شده و منجر به افزایش شدید دوپامین از پایانه‌های دوپامینرژیکی می‌شود. بنابراین، ماده موثره عصاره گیاه کانابیس ساتیوا باعث تحریک نورون‌های دوپامینرژیک در این ناحیه می‌شود که در نهایت منجر به تولید ایمپالس‌های مهاری IPSP می‌شود [۲۰]. هم‌چنین، مطالعات نشان داده‌اند که نورون‌ها در هر قسمت از مغز حساسیت‌های مختلف دارند. در نتیجه اثر عصاره برگ این گیاه در قسمت‌های مختلف مغز یکسان نمی‌باشد. به‌علاوه، میزان پراکندگی رسپتورهای CB1 در نواحی مختلف هیپوکامپ متفاوت می‌باشد و این موضوع باعث اثرات افزایشی یا کاهشی تعداد نورون‌ها شده است [۱۱].

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان می‌دهد که تزریق عصاره الکلی برگ گیاه شاهدانه به‌مدت زمان یک ماه اثر کاهشی بر تعداد نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ موش صحرایی دارد، هم‌چنین تزریق این عصاره با دوز ۲۵ mg/kg اثر افزایشی در نواحی CA2 و CA3 داشته است، در حالی که افزایش دوز در این نواحی کاهش تراکم نورونی را به همراه داشته است. از آنجایی که این گیاه اثرات محافظتی وابسته به دوز و مدت زمان مصرف دارد، شاید استفاده از دوز ۲۵ mg/kg عصاره الکلی برگ گیاه مذکور در مدت زمان یک‌ماه بتواند اثرات نوروپروتکتیوی خود را در بخش‌های وسیعی از هیپوکامپ القاء کند و احتمالا بتوان از آن جهت درمان بیماری-های مربوط به اختلالات حافظه استفاده نمود، هرچند برای تعمیم این نتایج در انسان نیاز به مطالعات بیشتری است.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه برای اخذ درجه کارشناسی ارشد از گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد می‌باشد. از تمامی همکاران گروه زیست شناسی و مدیریت محترم گروه، سرکار خانم دکتر محمود زاده و ریاست محترم دانشکده علوم آقای دکتر هروی جهت همکاری‌های بی-دریغ‌شان تشکر و قدردانی می‌شود.

References:

[1] Kandel ER, Schavart JH, Jessel TM. Pricipels of neural science. 4th ed. New York: Mc Graw-Hill; 2000. p. 27-49.

[2] Mizuno K, Giese KP. Hippocampus-dependent memory formation: do memory type-specific mechanism exist?. ***J Pharmacol Sci*** 2005; 98(3): 191-7.

[3] Saitoh O, Karns CM, Courchesne E. Development of the hippocampal formation from 2 to 42 years: MRI evidence of smaller area dentata in autism. ***Brain*** 2001; 124(Pt7): 1317-24.

[4] Jackson C, McCabe BJ, Nicol AU, Grout AS, Brown MW, Horn G. Dynamics of a memory trace: effects of sleep on consolidation. ***Curr Biol*** 2008; 18(6): 393-400.

[5] Baringa M. Neurobiology. How cannabinoids work in the brain. ***Science*** 2001; 291(5513): 2530-1.

[6] Kosiorek P, Hryniewicz A, Bialuk L, Zawwadzka A, Winnicka MM. Cannabinoids alter recognition memory in rat. ***Pol J Pharmacol*** 2003; 55(5): 903-10.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-11-01]

[7] Ranganathan M, D'Souza DC. The acute effects of cannabinoids on memory in humans: a review. ***Psychopharmacology (Berl)*** 2006; 188(4): 425-44.
[8] Barbara BW. Physiological and Psychological effects cannabis Review of the research findings. ***J Psychology*** 2002; 17(2): 128-30.
[9] Solowiji N, Battisti R. The chronic effects of cannabis on memory in humans: a review. ***Curr Drug Abuse Rev*** 2008; 1(1): 81-98.
[10] Braide D, Sala M. Function of cannabinoid–induced working memory impairment is reversed by second generation choline strasel inhibitor in rats. ***Neuroreport*** 2000; 11(9): 2025-9.
[11] Murillo-Rodriguez E. The role of the CB1 receptor in the regulation of sleep. ***Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*** 2008; 32(6): 1420-7.
[12] Kyari MZ Extraction and characterization of seed oils. ***Int Agro Physics*** 2008; 22: 139-142.
[13] Tehranipour M, Ghadamyari T. Neurotective effect of salvia stamina alcoholic extract on peripheral nerve degeneration after sciatic nerve compression in rat. ***Pharmacologyonline*** 2009; 3: 679-87.
[14] Behnam Rasouli M, Nikravesh MR, Mahdavi Shahri N, Tehranipour M. Post-operative time effects after Sciatic nerve crush on the number of Alpha motoneurons, using a stereological counting method (Disector). ***Iran Biomed J*** 2000; 4(1): 45-9. [in Persian]
[15] Sagredo O, García-Arencibia M, de Lago E, Finetti S, Decio A, Fernández-Ruiz J. Cannabinoids and neuroprotection in basal ganglia disorders. ***Mol Neurobiol*** 2007; 36(1): 82-91.
[16] Izquierdo I, Orsingher OA, Berardi AC. Effect of cannabinoidiol and of other cannabis Sativa compounds on Hippocampal seizure discharges. ***Psycho-Pharmacology (Berl)*** 1973; 28(1): 95-102.
[17] Ameri A. The effect of cannabinoids on the brain***. Prog Neurobiol*** 1999; 58(4): 315-48.
[18] Mark LP, Daniels DL, Naidich TP, Yetkin Z, Borne JA. The hippocampus. ***AJNR Am J Neuroradiol*** 1993; 14(3): 709-12.
[19] Huri F, Gavasos JE, Tien RD. Hippocampus. Normal magnetic resonance imaging anatomy with volumetric studies. ***Neuroimaging Clin N Am*** 1997; 7(1): 11-30.
[20] de Kloet AD, Woods SC. Minireview: Endocannabinoids and their receptors as targets for obesity therapy. ***Endocrinology*** 2009; 150(6): 2531-6.
[21] Le Foll B, Goldberg SR. Cannabinoid CB1 receptor antagonists as promising new medications for drug dependence. ***J Pharmacol Exp Ther*** 2005; 312(3): 875-83.
[22] Robbe D, Montgomery SM, Thome A, Rueda-Orozco PE, McNaughton BL, Buzsaki G. Cannabinoids reveal importance of spike timing coordination in hippocampal function. ***Nat Neurosci*** 2006; 9(12): 1526-33.
[23] Penzo MA, Peña JL. Endocannabinoid-mediated long-term depression in the avian midbrain expressed presynaptically and postsynaptically. ***J Neurosci*** 2009; 29(13): 4131-9.
[24] Fu LW, Longhurst JC. Electroacupuncture modulates vlPAG release of GABA through presynaptic cannabinoid CB1 receptors. ***J Appl Physiol*** 2009; 106(6): 1800-9.
[25] Nasehi M. Effect of inhibitors of nitric oxide synthesis in the dorsal hippocampus area CA1 on learning model. ***J Mazandaran Univ Med Sci*** 2009; 71(19): 1-9. [in Persian]
[26] Jeon YJ, Yang KH, Pulaski JT, Kaminski NE. Attenuation of inducible nitric oxidesynthase gene expression by delta 9-tetrahydrocannabinol is mediated through the inhibition of nuclear factor-kappa B/Rel activation. ***Mol Pharmacol*** 1996; 50(2): 334-41.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-11-01]