*Original Article*

# Influence of dorsal hippocampal GABA receptors on state-dependent learning induced by CB1 cannabinoid receptors agonist in mice

**Jafari K [1], Oryan Sh[1], Pakpour B[2], Navaeian M[3], Piri M[4*]**

1- Department of Biology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, I. R. Iran.
2- Department of Biology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Central Tehran Branch, Tehran, I. R. Iran.
3- Department of Biology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Shahr-e-Rey Branch, Shahr-e-Rey, I. R. Iran.
4- Department of Biology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, Ardabil Branch, Ardabil, I. R. Iran.

Received December 22, 2011; Accepted May 23, 2012

## Abstract:

**Background:** Cannabinoids exert widespread effects on cognitive functions. An overlapped distribution of GABA receptors and cannabinoid receptors has been reported in some brain structures (e.g. dorsal hippocampus). Thus, the present study was undertaken to examine the possible role of the dorsal hippocampus $GABA_A$ receptors on ACPA induced amnesia and ACPA state-dependent memory.

**Materials and Methods:** This experimental study was conducted on 250 adult male NMRI mice. Muscimol and ACPA were used as agonists of $GABA_A$ and the cannabinoid CB1 receptors, respectively. Mice were anaesthetized and cannulae were implanted bilaterally into the CA1 regions of the dorsal hippocampus. Seven days after post-surgery recovery, the behavioral testing was performed using an inhibitory avoidance task and the step-down latency of the animals was used to assess memory retention.

**Results:** Post-training administration of ACPA (3ng/mouse) impaired the memory retrieval. The memory impairment induced by ACPA was fully reversed by pre-test administration of ACPA or muscimol.

**Conclusion:** The results suggest that the $GABA_A$ receptors of the dorsal hippocampal may play an important role in ACPA-induced amnesia and ACPA state-dependent memory.

**Keywords:** ACPA, Muscimol, State-dependent memory, Inhibitory avoidance learning, Mouse

* **Corresponding Author.**
**Email**: biopiri@iauardabil.ac.ir
**Tel:** 0098 912 254 3585
**Fax:** 0098 451 772 8026

Conflict of Interests: ***No***

***Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences September, 2012; Vol. 16, No 4, Pages 288-296***

***Please cite this article as:*** Jafari K, Oryan Sh, Pakpour B, Navaeian M, Piri M. Influence of dorsal hippocampal GABA receptors on state-dependent learning induced by CB1 cannabinoid receptors agonist in mice. ***Feyz*** 2012; 16(4): 288-96.

[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-12 ]

# تاثیر گیرنده‌های گابای هیپوکامپ پشتی بر یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با آگونیست گیرنده‌های کانابینوئیدی CB1 در موش کوچک آزمایشگاهی

کبری جعفری [۱]، شهربانو عریان [۲]، بهاره پاکپور [۳]، مجید نوائیان [٤]، مرتضی پیری [۵*]

**خلاصه:**

**سابقه و هدف:** کانابینوئیدها اثرات متنوعی بر روی اعمال شناختی می‌گذارند. هم‌پوشانی بین گیرنده‌های گابا و کانابینوئیدی در برخی از ساختارهای مغزی نظیر هیپوکامپ پشتی گزارش شده است. بنابراین در مطالعه حاضر نقش احتمالی گیرنده‌های گابا-A هیپوکامپ پشتی بر روی فراموشی القاء شده با ACPA – آگونیست گیرنده کانابینوئیدی CB1 و یادگیری وابسته به وضعیت ACPA مورد بررسی قرار گرفته است.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی از ۲۵۰ سر موش کوچک آزمایشگاهی نر NMRI استفاده شد. موسیمول به‌عنوان آگونیست گیرنده‌های گابا-A و ACPA به‌عنوان آگونیست گیرنده‌های کانابینوئیدی CB1 استفاده شد. موش‌ها بیهوش شده و کانول‌گذاری دوطرفه در ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی انجام شد. بعد از طی دوره بهبودی هفت روزه، آزمون رفتاری با استفاده از دستگاه یادگیری احترازی غیرفعال انجام شد و میزان تأخیر در پایین آمدن از سکو به‌عنوان معیار حافظه در نظر گرفته شد.

**نتایج:** تزریق پس از آموزش ACPA (۳ نانوگرم به ازای هر موش) باعث تخریب حافظه شد. حافظه تخریب شده با تزریق ACPA با به‌کار بردن ACPA یا موسیمول در روز آزمون به‌طور کامل به حالت عادی برگشت.

**نتیجه‌گیری:** این یافته‌ها نشان می‌دهد که گیرنده‌های گابا -A هیپوکامپ پشتی نقش مهمی در فراموشی ایجاد شده با ACPA و یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با ACPA بازی می‌کنند.

**واژگان کلیدی:** ACPA ، موسیمول، حافظه وابسته به وضعیت، یادگیری احترازی غیر فعال، موش کوچک آزمایشگاهی

دو ماه‌نامه علمی– پژوهشی فیض، دوره شانزدهم، شماره ٤، مهر و آبان ۱۳۹۱، صفحات ۲۹٦-۲۸۸

## مقدمه

یادگیری وابسته به وضعیت پدیده‌ای است که در آن یاد-آوری اطلاعات تازه کسب شده تنها در شرایطی صورت می‌گیرد که فرد از لحاظ حسی و فیزیولوژیک در همان شرایطی قرار گیرد که اطلاعات در آن شرایط کد شده است [۱]. برخی مطالعات بیان نموده‌اند که داروهایی نظیر کانابینوئیدها [۲]، اپیوئیدها [۳]، لیتیم [٤] و هیستامین [۵] قادر به ایجاد یادگیری وابسته به وضعیت می‌باشند.

کانابینوئیدها از گیاه شاهدانه استخراج شده یا به‌صورت مصنوعی تولید می‌گردند. آنها از مشتقات اسیدهای چرب به‌ویژه آراشیدونیک اسید می‌باشند. هزاران سال است که حشیش و ماری جوانا که هر دو از گیاه شاهدانه هندی با نام علمی *Cannabis sativa* به‌دست می‌آیند، به‌علت اثرات دارویی و هم‌چنین اثرات مقلد حالات روانی مورد استفاده قرار می‌گیرند. تاکنون مقالات مروری زیادی درباره فارماکولوژی کانابینوئیدها انتشار یافته است. تأثیرات شناخته شده و مهمی که در این مقالات مروری برای اثر کانابینوئیدها برروی CNS معرفی شده شامل: تغییر در ادراک، یادگیری، حافظه، سرخوشی و تسکین درد می‌باشند. هم‌چنین، دیده شده است که کانابینوئیدها سرکوب‌گر سیستم ایمنی بوده و ایمنی سلولی و هومورال را سرکوب می‌کنند [۸-٦]. کانابینوئیدها به-واسطه اثر بر روی گیرنده‌های کانابینوئیدی CB1 و CB2 اثرات وسیعی را در گونه‌های مختلف ایجاد می‌نمایند [٦]. اخیرا گیرنده-های کانابینوئیدی جدیدی موسوم به CB3 نیز در سیستم عصبی شناسایی و گزارش شده است [۹،۱۰]. گیرنده‌های CB1 جزء گیرنده‌های متابوتروپیک سیستم عصبی مرکزی هستند که به مقدار زیاد در نواحی مختلف مغز که نقش مهمی در حافظه دارند، نظیر هیپوکامپ، قشر مغز و آمیگدال بیان می‌شوند [۷]. این گیرنده‌های پیش سیناپسی از طریق پروتئین‌های G عمل نموده و اثرات خود

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

[۲] استاد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

[۳] استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز

[۴] استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر ری

[۵] استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل

***نشانی نویسنده مسئول:**

اردبیل، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

**تلفن:** ۰۹۱۲ ۲۵۴۳۵۸۵ **دورنویس:** ۰۴۵۱ ۷۷۲۸۰۲۶

**پست الکترونیک:** biopiri@iauardabil.ac.ir

**تاریخ دریافت:** ۹۰/۱۰/۱ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۹۱/۳/۳



[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-12 ]

را به‌واسطه مهار ساخت آدنوزین مونوفسفات حلقوی، کاهش هدایت کلسیم به‌ویژه از طریق کانال‌های نوع N کلسیمی، افزایش هدایت پتاسیم از طریق کانال‌های پتاسیمی و افزایش فعالیت پروتئین کیناز فعال شده توسط میتوژن (MAPK) اعمال می‌نمایند [۱۱، ۱۲]. مطالعات رفتاری مشخص کرده‌اند که در هیپوکامپ برهمکنش مستقیمی بین گیرنده‌ای پیش سیناپسی CB1 برخی از میانجی‌های عصبی از جمله گابا، گلوتامات، استیل کولین و نورآدرنالین وجود دارد و فعال شدن گیرنده‌های پیش سیناپسی CB1 می‌تواند رهایش این میانجی‌های عصبی را کاهش دهد [۱۳]. جریان هم‌زمان گیرنده‌ای گابا و گیرنده‌ای CB1 در برخی از ساختارهای مغزی از جمله هیپوکامپ نشان دهنده احتمال برهمکنش بین سیستم کانابینوئیدی و گابائرژیک در کنترل اعمال شناختی می‌باشد [۱٤]. گابا اصلی‌ترین ناقل عصبی مهاری در مغز می‌باشد. این ناقل عصبی مهاری از طریق اثر بر روی سه گیرنده مختلف گابا اثرات مهاری خود را اعمال می‌نماید [۱۵]. گیرنده‌های گابا -A و گابا -C جزءگیرنده‌هایی می‌باشند که با کانال وابسته به لیگاند کلر جفت شده‌اند، در حالی‌که گیرنده گابا -B از طریق پروتئین‌های G عمل می‌نماید [۱۵،۱٦]. در گذشته اثر سیستم گابائرژیک بر روی یادگیری و حافظه مشخص شده است [۱۷]. اکثر گزارشات نشان می‌دهد که تزریق آگونیست گیرنده‌های گابائرژیک باعث تخریب حافظه شده و این در حالی است که آنتاگونیست‌های آنها باعث تسهیل ذخیره و به یادآوری حافظه احترازی غیر فعال می‌شوند. به‌عنوان نمونه نشان داده شده است که وقتی آگونیست‌های گابا به داخل بطن‌های جانبی، بخش قاعده‌ای مغز جلویی، هیپوکامپ و آمیگدال تزریق می‌شوند، باعث تخریب حافظه می‌گردند [۱۸-۲۱]. مطالعات پیشین هم‌چنین پیشنهاد نموده‌اند که گیرنده‌های گابا -A در یادگیری وابسته به وضعیت دخیل می‌باشند [۱۸]. با توجه به اینکه سیستم گابائرژیک در هیپوکامپ پشتی حضوردارد و هیپوکامپ پشتی یکی از ساختارهای اصلی دخیل در حافظه و یادگیری در مغز می‌باشد و با در نظر داشتن این نکته که اثر سیستم گابائرژیک در مطالعات قبلی بر روی یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با کانابینوئیدها مورد بررسی قرار نگرفته است [۱۹]، این مطالعه با هدف بررسی تاثیر گیرنده‌های گابا - A هیپوکامپ پشتی بر روی یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با ACPA که نوعی آگونیست گیرنده کانابینوئیدی CB1 می‌اشد، انجام شده است. بدین منظور ما در بخش اول این مطالعه اثر ACPA بر روی شکل‌گیری و به یادآوری حافظه احترازی غیرفعال را مورد بررسی قرار داده‌ایم و در بخش دوم این مطالعه اثر موسیمول، آگونیست گیرنده گابا ـــA، را بر روی یادگیری وابسته به وضعیت القا شده با ACPA مورد بررسی قرار دادیم.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی که در سال ۸۹ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران مرکز انجام شد، از ۲۵۰ سر موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMRI (وزن تقریبی ۳۰-۲۲ گرم) که از انستیتو پاستور ایران تهیه شد، استفاده گردید. حیوان‌ها بعد از انتقال به حیوانخانه تحقیقاتی در قفس‌های ده تایی با دوره شبانه روزی طبیعی (۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی) و در دمای ۳±۲۲ درجه سانتی‌گراد، با آب و غذای کافی نگهداری شدند. در هر سری آزمایش ده سر موش استفاده شد.

دستگاه یادگیری احترازی غیر فعال و نحوه انجام آزمون‌های رفتاری

دستگاه یادگیری احترازی غیر فعال مدل Step-down، جعبه چوبی به ابعاد (٤۰×۳۰×۳۰ سانتی‌متر) می‌باشد. کف دستگاه دارای ۲۹ میله فولادی با قطر ۰/۳ سانتی‌متر می‌باشد که به فاصله ۱ سانتی‌متر از یکدیگر قرار گرفته‌اند. این میله‌ها به دستگاه تحریک کننده متصل شده و شوک الکتریکی از طریق این میله‌ها به حیوانات مورد آزمایش وارد می‌شود. یک سکوی مکعبی چوبی به ابعاد (٤×٤×٤ سانتی‌متر) در قسمت میانی کف دستگاه (روی میله‌های فلزی) قرار گرفته است که حیوانات هنگام انجام آزمایشات به آرامی در روی این سکو قرار داده می‌شوند. یادگیری احترازی غیرفعال مدل Step-down روشی مورد قبول برای بررسی حافظه دراز مدت در موش‌های کوچک آزمایشگاهی می‌باشد [۲۲]. در این روش، بررسی حافظه در دو روز متوالی و بین ساعت ۸ صبح تا ۲ بعد از ظهر انجام شد. روز اول یا روز آموزش (Training day) شامل آموزش دادن حیوان‌ها در دستگاه بوده و در روز دوم یا روز آزمون (Testing day) میزان حافظه حیوان‌های آموزش دیده بررسی می‌شود. در روز آموزش هر حیوان به آرامی روی سکوی مکعبی دستگاه ارزیابی حافظه قرار می‌گیرد و مدت زمان توقف روی سکو (قبل از پایین آمدن) ثبت می‌شود. در صورتی که هر موش بیش از ۲۰ ثانیه روی سکو بماند، آن موش حذف می‌شود. بلافاصله بعد از پایین آمدن موش از مکعب چوبی و قرار گرفتن چهار پای موثر بر روی میله‌های فولادی شوک الکتریکی به‌مدت ۱۵ ثانیه (۱ هرتز، ۰/۵ ثانیه و ٤۵ ولت مستقیم) توسط حیوان دریافت می‌شود. جلسه آزمون ۲٤ ساعت بعد از آموزش، مشابه آموزش انجام می‌شود، با این تفاوت که حیوانات مورد آزمایش در روز آزمون شوک دریافت نمی‌کنند. مدت زمان توقف موش بر روی سکو در روز آزمون به عنوان معیار حافظه در موش اندازه‌گیری می-



[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-12 ]

شود. حداکثر زمان برای توقف موش روی سکو (زمان سقف cut-off) برابر با ۳۰۰ ثانیه می‌باشد که به‌عنوان حافظه کامل در نظر گرفته می‌شود. در این حالت موش‌هایی که حافظه کامل دارند، مدت بیشتری در روی سکو باقی می‌مانند؛ چرا که بر اساس تجربه روز آموزش پایین آمدن از سکو را مساوی با دریافت شوک می‌دانند. برعکس موش‌هایی که به‌دلیل دریافت دارو مخرب حافظه، تجربه روز آموزش را به‌خاطر نمی‌آورند، به‌دلیل ترس از ارتفاع و عدم به‌خاطر داشتن شوک روز آموزش که هنگام پایین آمدن از سکو دریافت کرده‌اند، زودتر از سکو پایین می‌آیند. بنابراین، هر چه تاخیر موش‌ها در پایین آمون از سکو بیشتر باشد، بیانگر حافظه خوب و هرچه این زمان کوتاه‌تر باشد، بیانگر تخریب حافظه احترازی غیرفعال می‌باشد.

داروها

در این تحقیق از آگونیست اختصاصی گیرنده CB1 کانابینوئیدی یعنی ACPA و آگونیست گیرنده گابا-A یعنی موسیمول استفاده گردید (تاکریس، آمریکا). موسیمول در سرم فیزیولوژی استریل ۰/۹ درصد حل شد و ACPA که به‌صورت محلول بود، توسط سالین رقیق شده و مورد استفاده گرفت. تمامی داروهای ذکر شده به داخل ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی تزریق شدند.

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

موش‌های کوچک آزمایشگاهی توسط تزریق کتامین هیدروکلرید (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به‌علاوه زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش شدند. بعد از بی هوش شدن حیوانات در دستگاه استریوتاکسی قرار داده شده و دو کانول راهنما (اندازه ۲۲) یک میلی‌متر بالاتر از محل تزریق، بر اساس اطلس پاکسینوس (۲۰۰۱) قرار داده شد. مختصات ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی عبارت بود از: AP=-۲، ML=±۱/٦، V=-۱/۵ [۱۲]. بعد از قرار دادن کانول در مختصات مورد نظر با استفاده از سیمان دندان پزشکی کانول‌های راهنما در جای خود محکم شدند. پس از جراحی و قبل از تزریق درون مغزی دارو، به حیوانات اجازه داده شد ۵ تا ۷ روز دوره بهبودی پس از جراحی را به‌منظور رفع استرس و تخریب بافتی احتمالی توسط جراحی سپری کرده، به‌حالت عادی خود برگردند.

تزریق درون مغزی دارو

برای تزریق دارو به ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی پس از برداشتن سیم داخل کانول راهنما، سر سوزن دندانپزشکی شماره ۲۷ که ۹ میلی‌متر طول داشت و به کت دان تیوب نوزاد (شماره شماره ٤) متصل بود، در داخل کانول راهنما شماره ۲۲ قرار داده شد و توسط سرنگ همیلتون ۲ میکرولیتری در هر کانول ۰/۵ میکرولیتر دارو در مدت ۹۰-٦۰ ثانیه تزریق شد. در طول تزریق به حیوان اجازه داده شد بدون هیچ استرسی آزادانه حرکت کند.

بافت شناسی

پس از کشتن حیوان‌ها توسط کلروفرم، دقیقا به همان روشی که داروها به داخل هیپوکامپ پشتی تزریق می‌شد، ۰/۵ میکرولیتر رنگ متیلن بلو ۱ درصد به داخل هر کانول تزریق شد. بعد از تزریق رنگ متیلن بلو مغز از درون جمجمه بیرون آورده شده و درون فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت. پس از یک هفته با استفاده از تیغ جراحی در محل ورود کانول به درون مغز برش‌هایی داده شد و محل ورود کانول به مغز به‌وسیله میکروسکوپ لوپ مورد مطالعه قرارگرفت. جهت مطالعه مقاطع بافتی تهیه شده، از اطلس پاکسینوس استفاده شد. مطالعه بافت شناسی برای اطمینان از قرار گرفتن صحیح کانول گذاری در ناحیه هیپوکامپ پشتی انجام شد.

تیمارهای دارویی و آزمایش‌های انجام شده

آزمایش اول: بررسی تاثیر تزریق ACPA پس از آموزش بر روی حافظه احترازی غیرفعال

هشت گروه حیوان در این آزمایش به‌کار رفت. چهار گروه اول مقادیر مختلف ACPA (۳، ۱/۵، ۰/۷۵، ۰ نانوگرم به ازای هر موش) را بلافاصله پس از آموزش به‌صورت درون مغزی دریافت کردند. در روز آزمون این گروه‌ها سالین (۱ میکرولیتر به ازای هر موش) را ۵ دقیقه قبل از تست دریافت داشتند. چهار گروه دیگر بلافاصله بعد از آموزش ACPA (۳ نانوگرم به ازای هر موش) را دریافت کردند و در روز آزمون مقادیر مختلف ACPA (۳، ۱/۵، ۰/۷۵، ۰ نانوگرم به ازای هر موش) را ۵ دقیقه قبل از آزمون به صورت درون مغزی دریافت کردند.

آزمایش دوم: بررسی تاثیر تزریق درون مغزی موسیمول بر حافظه احترازی تخریب شده ناشی از ACPA

در این آزمایش هشت گروه حیوان به کار رفت. چهار گروه اول سالین را بلافاصله بعد از آموزش دریافت داشتند و در روز آزمون مقادیر مختلف موسیمول (۰/۱۵، ۰/۰۷۵، ۰/۰۳۷، ۰ میکروگرم به ازای هر موش) را پنج دقیقه قبل از آزمون دریافت داشتند. چهار گروه باقی مانده بلافاصله بعد از آموزش ACPA (۳ نانوگرم به ازای هر موش) را دریافت کردند و در روز آزمون سالین یا مقادیر مختلف موسیمول (۰/۱۵، ۰/۰۷۵، ۰/۰۳۷، ۰ میکروگرم به ازای هر موش) را پنج دقیقه قبل از آزمون به صورت درون مغزی دریافت داشتند.

[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-12 ]

**آزمایش سوم: بررسی تاثیر تزریق درون مغزی موسیمول به‌علاوه ACPA بر حافظه احترازی تخریب شده ناشی از ACPA**

**در این آزمایش هفت گروه حیوان به‌کار رفت. دو گروه از حیوانات در روز آموزش بلافاصله بعد از آموزش سالین یا ACPA (۳ نانوگرم به ازای هر موش) و در روز آزمون هر دو گروه سالین را دریافت کردند، پنج گروه دیگر در روز آموزش ACPA (۳ نانو گرم به ازای هر موش) را دریافت کردند و در روز آزمون سه گروه از موش‌ها ACPA (۰/۷۵ نانوگرم به ازای هر موش) یا موسیمول (۰/۰۷۵، ۰/۰۳۷ میکروگرم به ازای هر موش) را پنج دقیقه قبل از آزمون دریافت داشت و دو گروه باقی مانده ابتدا ACPA (۰/۷۵ نانوگرم به ازای هر موش) و بعد از پنج دقیقه مقادیر مختلف موسیمول (۰/۰۷۵، ۰/۰۳۷ میکروگرم به ازای هر موش) را دریافت کردند و در نهایت ۵ دقیقه بعد از آخرین تزریق آزمون حافظه از آنها به‌عمل آمد.**

**تجزیه و تحلیل آماری**

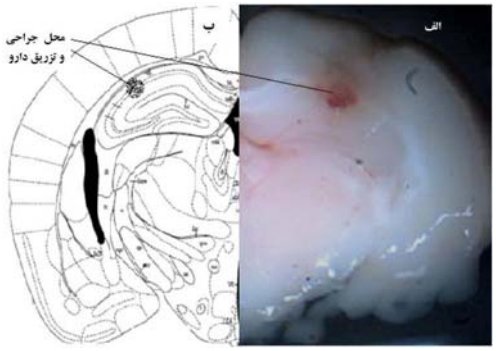
**در همه آزمایش‌ها، زمان توقف حیوان روی سکو به‌صورت میانگین و انحراف معیار استاندارد ثبت گردید. به‌علت تفاوت‌های خاص زیادی که در پاسخ‌های یادگیری حیوانات وجود داشت و عدم برقراری فرضیات لازم جهت انجام آنالیز واریانس یک‌طرفه، از معادل ناپارامتری آن یعنی کروسکال والیس (Kruskal- wallis) برای آنالیز داده‌ها استفاده شد و به‌دنبال آن برای بررسی جفت گروه‌ها از روش Mann- withy, U-test استفاده گردید. در تمام ارزیابی‌های آماری، حداقل $P<۰/۰۵$ معیار معنی‌دار بودن مقایسه بین گروه‌ها بوده است.**

**نتایج**

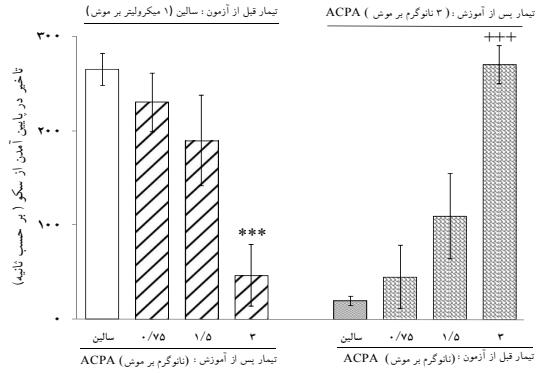
**مقطع بافتی مربوط به ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی که نشان‌دهنده قرارگیری صحیح کانول در ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی می‌باشد در شکل شماره ۱ نشان داده شده است. لازم به ذکر است که تنها داده‌های مربوط به حیواناتی که محل جراحی آنها در مقایسه با اطلس پاکسینوس صحیح بود، در آنالیز آماری مورد استفاده قرار گرفت.**

**آزمایش اول: نتایج تزریق پس از آموزش ACPA بر روی حافظه احترازی غیرفعال در موش‌های کوچک آزمایشگاهی**

**نتایج آزمایش اول نشان می‌دهد، تزریق پس از آموزش ACPA (۳ نانوگرم به ازای هر موش) تاخیر در پایین رفتن از سکو، یا به اصطلاح میزان حافظه را در ۲۴ ساعت بعد کاهش می‌دهد ($P=۰/۰۰۱$) (شکل شماره ۲- پانل چپ). به‌علاوه، به‌کار بردن ACPA (۳ نانوگرم به ازای هر موش) قبل از آزمون قادر به بهبود حافظه تخریب شده با ACPA روز آموزش می‌باشد ($P=۰/۰۰۱$) (شکل شماره ۲- پانل راست)**




شکل شماره ۱- عکس مقطع بافتی مربوط به کانول گذاری در ناحیه CA1 (الف) و شکل شماره‌تیک برگرفته از اطلس پاکسینوس که ناحیه CA1 در آن مشخص شده است (ب)



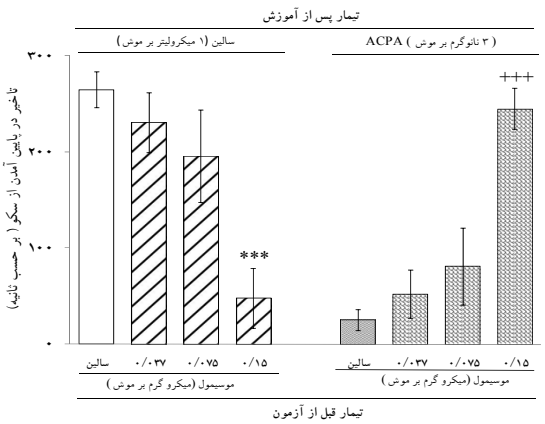

شکل شماره ۲- تزریق ACPA پس از آموزش یا پیش از آزمون باعث تخریب حافظه می‌شود ($P=۰/۰۰۱$) (پانل چپ). هم‌چنین، ACPA قادر به ایجاد یادگیری وابسته به وضعیت می‌باشد ($P=۰/۰۰۱$) (پانل راست). $P=۰/۰۰۱$*** در مقایسه با گروه سالین/ سالین و $P=۰/۰۰۱$+++ در مقایسه با سالین/ACPA می‌باشد.

**آزمایش دوم: نتایج تزریق درون مغزی موسیمول قبل از آزمون بر روی حافظه تخریب شده توسط ACPA**

**نتایج آزمایش دوم نشان می‌دهد، به‌کار بردن موسیمول (۰/۱۵ میکروگرم به ازای هر موش) به تنهایی قبل از آزمون باعث تخریب حافظه احترازی غیرفعال می‌شود ($P=۰/۰۰۱$) (شکل شماره ۳- پانل چپ)، اما به‌کار بردن همین مقدار موسیمول قبل از آزمون می‌تواند حافظه تخریب شده با ACPA روز آموزش را اصلاح کند ($P=۰/۰۰۱$) (شکل شماره ۳- پانل راست).**



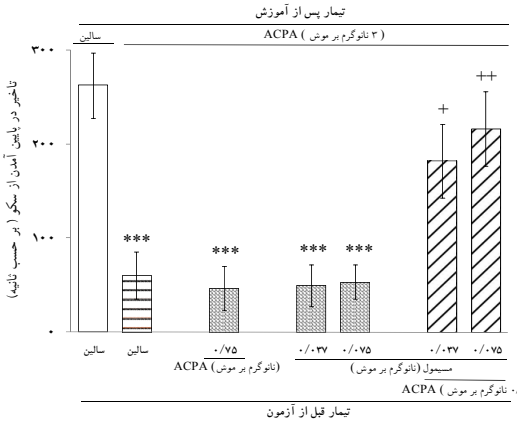
[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-12 ]




شکل شماره ۳- تزریق پیش از آزمون موسیمول باعث تخریب حافظه احترازی غیرفعال می‌شود ($P$=۰/۰۰۱) (شکل ـ پانل چپ). هم‌چنین، تزریق پیش از آزمون موسیمول حافظه احترازی تخریب شده با تزریق پس از آموزش ACPA را اصلاح می‌کند ($P$=۰/۰۰۱) (شکل ـ پانل راست). ***$P$=۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه سالین/سالین و +++$P$=۰/۰۰۱ در مقایسه با سالین/ ACPA می‌باشد.

**آزمایش سوم: نتایج تزریق مقادیر غیر موثر موسیمول و ACPA همراه با هم بر روی حافظه تخریب شده توسط ACPA**

**نتایج آزمایش سوم، به‌کار بردن هم‌زمان مقادیر غیر موثر موسیمول (۰/۰۷۵، ۰/۰۳۷ میکروگرم به ازای هر موش) همراه با ACPA (۰/۷۵ نانوگرم به ازای هر موش) قبل از آزمون می‌تواند حافظه تخریب شده با ACPA روز آموزش را اصلاح کند ($P$=۰/۰۱)، اما هیچ‌کدام از این داروها به تنهایی قادر به اصلاح حافظه تخریب شده با ACPA نمی‌باشد (شکل شماره ٤).**




شکل شماره ٤- مقادیر غیر موثر موسیمول و ACPA به‌تنهایی قادر به اصلاح حافظه تخریب شده با ACPA روز آموزش نمی‌باشند ($P$>۰/۰۵) ولی همراه با هم می توانند این حافظه تخریب شده را اصلاح نمایند ($P$=۰/۰۱). ***$P$=۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه سالین/سالین و ++$P$=۰/۰۱، +$P$=۰/۰۵ در مقایسه با سالین/ ACPA می‌باشد.

## بحث

**مطالعات حاضر نشان می‌دهد تزریق پس از آموزش آگونیست اختصاصی گیرنده‌های کانابینوئیدی CB1 یعنی ACPA به داخل ناحیه CA1، ٢٤ ساعت قبل از آزمون باعث تخریب حافظه و القای فراموشی می‌شود. نتایج ما با نتایج سایر مطالعاتی که نشان می‌دهد آگونیست گیرنده‌های کانابینوئیدی باعث تخریب حافظه و القای فراموشی می‌شوند، هماهنگ می‌باشد [۲۳]. در مطالعات گذشته بیشتر اثر آگونیست‌های غیر اختصاصی کانابینو-ئیدی در تخریب حافظه مورد بررسی قرار گرفته است و به‌عنوان نمونه اثرات تخریبی WIN55, 212-2 و تتراهیدروکسی کانابینول بر روی حافظه نشان داده شده است [۲،۷،۱۱،۱۲]. در این حالت نمی‌توان بیان کرد که تخریب حافظه ایجاد شده توسط کدامیک از گیرنده‌های کانابینوئیدی CB1، CB2 یا CB3 میانجی‌گری شده است و با توجه به اینکه کانابینوئیدهای نقش تعدیل کننده بر روی حافظه دارند و اکثر آنتاگونیست‌های آنها نیز باعث تخریب حافظه می‌گردند [۷]، نمی‌توان با تزریق آنتاگونیست‌های اختصاصی گیرنده‌های CB1، CB2 یا CB3 مشخص نمود که پاسخ مشاهده شده توسط کدامیک از گیرنده‌های کانابینوئیدی میانجی‌گری شده است [۱۱]. از این نظر نتایج مطالعه حاضر اهمیت می‌یابد که علاوه بر اینکه به ما نشان می‌دهد که آگونیست‌های گیرنده‌های کانابینو-ئیدی باعث تخریب حافظه می‌گردند، بلکه مشخص می‌نماید که این پاسخ از طریق گیرنده‌های CB1 میانجی‌گری می‌گردد. یکی از اعمال شناخته شده کانابینوئیدها تخریب حافظه می‌باشد. گیرنده-های CB1 در پایانه آکسونی نورون‌های پیش سیناپسی قرار دارند و فعال شدن این گیرنده‌ها رهایش میانجی‌های عصبی را کاهش می‌دهد. نشان داده شده است که کانابینوئیدها با اثر بر روی گیرنده‌های پیش سیناپسی CB1 می‌توانند رهایش گابا، گلوتامات، دوپامین، نوراپی‌نفرین و استیل کولین را در هیپوکامپ کاهش دهند [۲٤]. با توجه به اهمیت این میانجی‌های عصبی در یادگیری و حافظه می‌توان گفت ACPA به‌واسطه کاهش رهایش این میانجی‌های عصبی در هیپوکامپ باعث تخریب حافظه می‌شود [۲۵]. به‌علاوه، نتایج ما نشان می‌دهد که حافظه تخریب شده با به-کار بردن بعد از آموزش ACPA با تزریق مجدد همان مقدار ACPA در روز آزمون دوباره به حالت عادی بر می‌گردد. این اثر ACPA یادگیری وابسته به وضعیت نامیده می‌شود. نتایج ما هم‌سو با مطالعات قبلی می‌باشد که نشان می‌دهند آگونیست‌های غیر اختصاصی گیرنده‌های کانابینوئیدی یعنی WIN55 و 212-2 قادر به ایجاد یادگیری وابسته به وضعیت می‌باشند [۱۲]. مشابه با کانابینوئیدها بعضی دیگر از داروها مانند مورفین [۳]، لیتیوم [۲٦] و**

[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-12 ]

هیستامین [۵] نیز اگر به تنهایی در روز آموزش به‌کار برده شوند باعث تخریب حافظه می‌گردند، اما به‌کار بردن آنها در روز آموزش و آزمون باعث ایجاد حافظه‌ی کامل می‌گردد که به این پاسخ اصطلاحا یادگیری وابسته به وضعیت گفته می‌شود. یادگیری وابسته به وضعیت فرآیندی است که در آن به‌یادآوری اطلاعات تازه کسب شده تنها در شرایطی ممکن می‌باشد که جاندار در روز آموزش و آزمون شرایط فیزیولوژیک و حسی یکسانی داشته باشد. این شرایط یکسان می‌تواند با به‌کار بردن دارو در روز آموزش و آزمون ایجاد گردد [۳]. با وجود اینکه یادگیری وابسته به وضعیت خیلی وقت است که شناخته شده است و اثر ناقل‌های عصبی مختلف بر روی یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با داروهای مختلف مورد بررسی قرار گرفته است، اما هنوز مکانیسم واقعی دخیل در این فرآیند شناسایی نشده است. برخی معتقدند که اثر یک دارو در شرایط مختلف یکسان نمی‌باشد و ممکن است تزریق یک دارو به جاندارانی که حافظه کامل دارند، باعث تخریب حافظه گردد، در حالی‌که تزریق همین دارو به جاندارانی که حافظه آنها با یک عامل دیگر که می‌تواند دارویی باشد، تخریب شده باعث برگشت حافظه و بهبود حافظه می‌گردد [۲۷،۲۸]. نتایج ما در بخش بعدی این مطالعه نشان داد که با وجود اینکه تزریق قبل از آزمون موسیمول به موش‌هایی که در روز آموزش سالین دریافت کرده‌اند، باعث تخریب حافظه احترازی غیرفعال می‌شود، اما تزریق آن به موش‌هایی که در روز آموزش تحت تاثیر دوز موثر ACPA بوده‌اند، باعث بهبود حافظه احترازی غیرفعال تخریب شده با ACPA می‌باشند. به بیان دیگر موسیمول روز آزمون قادر به تقلید اثر ACPA روز آزمون بوده و به مانند آن باعث بهبود حافظه تخریب شده با ACPA روز آموزش می‌گردد. مطالعات نشان می‌دهد که گابا نقش کنترلی در ایجاد تعادل بین سیستم‌های تحریکی و مهاری در قشر مخ و هیپوکامپ بازی می‌کند و نورون‌های بینابینی گابائرژیک در این دو بخش نقش فعالی در فرآیند پردازش اطلاعات دارا می‌باشند. در راستای نتایج به‌دست آمده در این مطالعه، نتایج مطالعات قبلی نیز نشان می‌دهد که آگونیست‌های گیرنده‌های گابا -A باعث تخریب حافظه شده و آنتاگونیست‌های این گیرنده باعث بهبود حافظه و یادگیری می‌گردند [۱۸،۲۰،۲۱]. البته اکثر این مطالعات به بررسی اثر تزریق محیطی موسیمول پرداخته‌اند، در حالی‌که در این مطالعه موسیمول به ناحیه هیپوکامپ پشتی که یکی از مراکز مهم شکل گیری حافظه دراز مدت می‌باشد، تزریق شده است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که هیپوکامپ یکی از مراکز اصلی است که موسیمول از طریق اثر بر آن باعث تخریب حافظه احترازی غیر فعال می‌گردد. با وجود اینکه موسیمول وقتی به تنهایی تزریق می‌شود، باعث تخریب حافظه می‌گردد، ولی تزریق آن به موش‌هایی که تحت تاثیر ACPA (آگونیست اختصاصی گیرنده CB1 کانابینوئیدی) بوده‌اند، باعث بهبود حافظه احترازی غیر فعال تخریب شده با ACPA می‌گردند. در این زمینه می‌توان بیان داشت که اثر یک دارو در شرایط مختلف یکسان نمی‌باشد و ممکن است تزریق یک دارو به جاندارانی که حافظه کامل دارند، باعث تخریب حافظه گردد، در حالی‌که تزریق این دارو به جاندارانی که حافظه آنها با یک عامل دیگر که می‌تواند دارویی باشد، تخریب شده باعث برگشت حافظه و بهبود حافظه می‌گردد [۲۸، ۲۹]. نتایج ما در بخش آخر این مطالعه نشان می‌دهد که مقادیر غیر موثر موسیمول و ACPA که به تنهایی قادر به اصلاح حافظه تخریب شده با ACPA روز آموزش نمی‌باشند، همراه با هم می‌توانند، حافظه تخریب شده با ACPA روز آموزش را اصلاح نمایند. این نتیجه نشان دهنده برهم‌کنش این دو سیستم در زمینه حافظه احترازی غیر فعال می‌باشد. در زمینه این همکاری می‌توان بیان داشت که گابا یک ناقل عصبی مهاری می‌باشد و به واسطه مهاری که اعمال می‌نماید، می‌تواند رهایش ناقل‌های عصبی دیگر را کاهش دهد [۱۸]. از طرف دیگر فعال شدن گیرنده‌های پیش سیناپسی CB1 می‌تواند، رهایش طیف وسیعی از ناقل‌های عصبی را کاهش دهد [۲۹]. بنابراین، این تحریک این دو سیستم توسط آگونیست‌های آنها می‌تواند از طریق مکانیسم‌ها و گیرنده‌های مختلف شرایط نسبتا یکسانی را ایجاد نماید و همین باعث می‌گردد که مقادیر غیر موثر آنها همراه با هم به‌صورت موثر حافظه تخریب شده با ACPA روز آموش را اصلاح نمایند.

## نتیجه‌گیری

ACPA قادر به تخریب حافظه احترازی غیر فعال و القاء یادگیری وابسته به وضعیت می‌باشد. حافظه تخریب‌شده با ACPA و یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با ACPA تحت تاثیر گیرنده‌های گابا -A هیپوکامپ پشتی قرار می‌گیرد و موسیول می‌تواند همانند ACPA روز آزمون حافظه تخریب شده با ACPA روز آموزش را اصلاح نماید.

## تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از زحمات سرکار خانم مریم السادات شاهین که ما را در آماده سازی این مقاله یاری نموده‌اند، تقدیر و تشکر می‌گردد.



[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-12 ]

**References:**


[1] Shulz DE, Sosnik R, Ego V, Haidarliu S, Ahissar E. A neuronal analogue of state-dependent learning. ***Nature*** 2000; 403(6769): 549-53.

[2] Nasehi M, Piri M, Jamali-Raeufy N, Zarrindast MR. Influence of intracerebral administration of NO agents in dorsal hippocampus (CA1) on cannabinoid state-dependent memory in the step-down passive avoidance test. ***Physiol Behav*** 2010; 100(4): 297-304.

[3] Zarrindast MR, Rezayof A. Morphine state-dependent learning: sensitization and interactions with dopamine receptors. ***Eur J Pharmacol*** 2004; 497(2): 197-204.

[4] Zarrindast M, Madadi F, Ahmadi S. Repeated administrations of dopamine receptor agents affect lithium-induced state-dependent learning in mice. ***J Psychopharmacol*** 2009; 23(6): 645-51.

[5] Zarrindast MR, Fazli-Tabaei S, Khalilzadeh A, Farahmanfar M, Yahyavi SH. Cross state-dependent retrieval between histamine and lithium. ***Physiol Behav*** 2005; 86(1-2): 154-63.

[6] Munro S, Thomas KL, Abu-Shaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. ***Nature*** 1993; 365(6441): 61-5.

[7] Piri M, Zarrindast MR, Oryan S. Effects of cannabinoidergic system of CA1 area of dorsal hippocampus on the memory of nicotine sensitized rats. ***Advance Cognitive Sci*** 2009; 11(2): 27-37.

[8] Zarrindast MR, Nasehi M, Piri M, Bina P. Anxiety-like behavior induced by histaminergic agents can be prevented by cannabinoidergic WIN55,212-2 injected into the dorsal hippocampus in mice. ***Pharmacol Biochem Behav*** 2010; 94(3): 387-96.

[9] Pugh G Jr, Smith PB, Dombrowski DS, Welch SP. The role of endogenous opioids in enhancing the antinociception produced by the combination of delta 9-tetrahydrocannabinol and morphine in the spinal cord. ***J Pharmacol Exp Ther*** 1996; 279(2): 608-16.

[10] Oz M, Ravindran A, Diaz-Ruiz O, Zhang L, Morales M. The endogenous cannabinoid anandamide inhibits alpha7 nicotinic acetylcholine receptor-mediated responses in Xenopus oocytes. ***J Pharmacol Exp Ther*** 2003; 306(3): 1003-10.

[11] Navaeian M, Piri M, Pakpour B. Influence of WIN55, 212-2 on morphine state-dependent memory in the step-down passive avoidance test. ***Sci J Kurdistan*** 2011; 16(3): 84-94. [in Persian]

[12] Piri M, Nasehi M, Zarrindast MR. Influence of Intracerebral Administration of L-Arginine in Dorsal Hippocampus (CA1) on WIN55, 212-2 Induced State-Dependent Memory. ***ZUMS Journal*** 2010; 18(70): 10-21. [in Persian]

[13] Al-Hayani A, Davies SN. Effect of cannabinoids on synaptic transmission in the rat hippocampal slice is temperature-dependent. ***Eur J Pharmacol*** 2002; 442(1-2): 47-54.

[14] Picciotto MR. Common aspects of the action of nicotine and other drugs of abuse. ***Drug Alcohol Depend*** 1998; 51(1-2): 165-72.

[15] Bormann J. The 'ABC' of GABA receptors. ***Trends Pharmacol Sci*** 2000; 21(1): 16-9.

[16] Olsen RW, Sieghart W. GABA A receptors: subtypes provide diversity of function and pharmacology. ***Neuropharmacology*** 2009; 56(1): 141-8.

[17] Reis HJ, Guatimosim C, Paquet M, Santos M, Ribeiro FM, Kummer A, et al. Neuro-transmitters in the central nervous system & their implication in learning and memory processes. ***Curr Med Chem*** 2009; 16(7): 796-840.

[18] Rassouli Y, Rezayof A, Zarrindast MR. Role of the central amygdala GABA-A receptors in morphine state-dependent memory. ***Life Sci*** 2010; 86(23-24): 887-93.

[19] Zarrindast MR, Bakhsha A, Rostami P, Shafaghi B. Effects of intrahippocampal injection of GABAergic drugs on memory retention of passive avoidance learning in rats. ***J Psychopharmacol*** 2002; 16(4): 313-9.

[20] Zarrindast MR, Noorbakhshnia M, Motamedi F, Haeri-Rohani A, Rezayof A. Effect of the GABAergic system on memory formation and state-dependent learning induced by morphine in rats. ***Pharmacology*** 2006; 76(2): 93-100.

[21] Zarrindast MR, Shamsi T, Azarmina P, Rostami P, Shafaghi B. GABAergic system and imipramine-induced impairment of memory retention in rats. ***Eur Neuropsychopharmacol*** 2004; 14(1): 59-64.

[22] Kameyama T, Nabeshima T, Kozawa T. Step-down-type passive avoidance- and escape-learning method. Suitability for experimental amnesia models. ***J Pharmacol Methods*** 1986; 16(1): 39-52.

[23] Nasehi M, Sahebgharani M, Haeri-Rohani A, Zarrindast MR. Effects of cannabinoids infused into the dorsal hippocampus upon memory formation in 3-days apomorphine-treated rats. ***Neurobiol Learn Mem*** 2009; 92(3): 391-9.

[24] Schlicker E, Kathmann M. Modulation of transmitter release via presynaptic cannabinoid receptors. ***Trends Pharmacol Sci*** 2001; 22(11): 565-72.

[25] Gifford AN, Tang Y, Gatley SJ, Volkow ND, Lan R, Makriyannis A. Effect of the cannabinoid receptor SPECT agent, AM 281, on hippocampal acetylcholine release from rat brain slices. ***Neurosci Lett*** 1997; 238(1-2): 84-6.

[26] Zarrindast MR, Madadi F, Ahmadi S. Repeated administrations of dopamine receptor agents affect lithium-induced state-dependent learning in mice. ***J Psychopharmacol*** 2008.

[27] Ahmadi S, Zarrindast MR, Haeri-Rohani A, Rezayof A, Nouri M. Nicotine improves morphine-induced impairment of memory: possible


[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-12 ]

[29] Azami NS, Piri M, Oryan S, Jahanshahi M, Babapour V, Zarrindast MR. Involvement of dorsal hippocampal alpha-adrenergic receptors in the effect of scopolamine on memory retrieval in inhibitory avoidance task. ***Neurobiol Learn Mem*** 2010; 93(4): 455-62.

involvement of N-methyl-D-aspartate receptors in the nucleus accumbens. ***Dev Neurobiol*** 2007; 67(8): 1118-27.

[28] Piri M, Zarrindast MR. Nitric oxide in the ventral tegmental area is involved in retrieval of inhibitory avoidance memory by nicotine. ***Neuroscience*** 2011.

[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-12 ]