

# تاثیر مهار کننده نیتریک اکساید سنتاز در ناحیه CA1 هیپوکامپ پشتی بر یادگیری وابسته به وضعیت کانابینوئیدها در مدل یادگیری اجتنابی مهارتی

محمد ناصحی<sup>۱</sup> مرتضی پیری<sup>۲</sup> محمد رضا زرین دست<sup>۳</sup>

## چکیده

**سابقه و هدف:** در این پژوهش اثر L-NAME (مهار کننده نیتریک اکساید سنتاز) به عنوان آنتاگونیست نیتریک اکساید، بر یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با WIN55, 212-2 در موش های کوچک آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفته است.

**مواد و روش ها:** به دنبال بیهوشی موش ها از طریق تزریق درون صفاقی کتامین و زایلین، حیوان ها توسط دستگاه استریوتاکسی جراحی شدند و ناحیه CA1 کانول گذاری شد. روش اجتنابی مهارتی (غیرفعال) با مدل Step-down برای بررسی حافظه در موش های کوچک آزمایشگاهی بکار گرفته شد و حافظه حیوان ۲۴ ساعت بعد از آموزش مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته ها:** تزریق درون مغزی WIN55,212-2 (۰/۵،۱ μg/mouse) در روز آموزش به تخریب حافظه حیوانات منجر شد. حافظه تخریب شده با تزریق WIN55,212-2 (۱ μg/mouse) در روز آموزش با بکاربردن همان مقدار از WIN55, 212-2 (۱ μg/mouse) در روز آزمون به حالت عادی برگشت. تزریق قبل از آزمون، L-NAME (۱،۳، ۰/۳) به تنهایی و همچنین در حیواناتی که حافظه آنها با تزریق WIN55,212-2 (۱ μg/mouse) در روز آموزش تخریب شده بود، تاثیری روی حافظه اجتنابی مهارتی ندارد. بعلاوه در حیواناتی که WIN55,212-2 (۱ μg/mouse) را هم بعد از آموزش و هم قبل از آزمون دریافت کرده بودند، تزریق L-NAME (۳ μg/mouse) دو دقیقه قبل از WIN55,212-2 در روز آزمون، حافظه اجتنابی مهارتی را تخریب می نماید.

**استنتاج:** نتایج این پژوهش نشان می دهد که WIN55,212-2 قادر به ایجاد یادگیری وابسته به وضعیت می باشد و تزریق قبل از آزمون L-NAME می تواند یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با WIN55, 212-2 را مهار نماید.

**واژه های کلیدی:** WIN55, 212-2، L-NAME، یادگیری وابسته به وضعیت، موش کوچک آزمایشگاهی

## مقدمه

کانابینوئیدها جزء داروهای مقلد حالات روانی می باشند که از گیاه شاهدانه استخراج می شوند. اثرات کانابینوئیدها از بسیاری جهات مشابه اپیوئیدها است. کانابینوئیدها به مانند اپیوئیدها دارای اثرات ضد دردی و

E-mail: mo58na@yahoo.com

**مؤلف مسئول:** محمد ناصحی - گرمسار: گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار

۱. گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار

۲. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل

۳. گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی و مرکز ملی مطالعات اعتیاد، دانشگاه علوم پزشکی تهران

تاریخ دریافت: ۸۷/۱۲/۱۰ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۸۷/۲/۲۷ تاریخ تصویب: ۸۷/۴/۱۷

از مدل step-down مورد مطالعه قرار گرفته است.

## مواد و روش ها

حیوان ها:

در آزمایش ها از موش کوچک آزمایشگاهی نر نژاد NMRI (وزن تقریبی ۳۰-۲۲ گرم) که از انستیتو پاستور ایران تهیه می شد، استفاده گردید. حیوان ها به حیوانخانه تحقیقاتی منتقل شده، در طول آزمایش آب و غذای کافی در اختیار موش ها قرار می گرفت. دمای حیوانخانه بین  $22 \pm 3$  درجه سانتیگراد متغیر بود. قبل از جراحی به مدت یک هفته به موش ها اجازه داده شد که خود را با شرایط حیوانخانه تطبیق دهند. موش ها در گروه های ده تایی قرار گرفتند. تمامی آزمایشات در طول روز انجام می شد.

دستگاه یادگیری اجتنابی مهارتی (غیر فعال):

دستگاه یادگیری اجتنابی مهارتی (غیر فعال) (Inhibitory (passive) avoidanse apparatus)، مدل Step-down، جعبه چوبی به ابعاد  $40 \times 30 \times 30$  cm می باشد. در کف دستگاه ۲۹ میلۀ فولادی با قطر  $3/0$  سانتی متر و به فاصله ۱ سانتی متر از یکدیگر قرار دارد. یک سکوی مکعبی چوبی به ابعاد  $4 \times 4 \times 4$  cm در قسمت میانی کف دستگاه (روی میله های فلزی) قرار گرفت، این میله ها به دستگاه تحریک کننده متصل شده و شوک الکتریکی از طریق این میله ها به حیوانات مورد آزمایش وارد می شد. آزمایش ها در اتاق نسبتاً تاریک و بدون سر و صدا انجام می شد.

داروها:

در این تحقیق داروهای WIN55, 212-2 (تاکریس، آمریکا) و L-NAME (سیگما، آمریکا) مورد استفاده قرار گرفت. WIN55, 212-2 در محلول حاملی حل شدند که ۹۰ درصد آن سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد و ۱۰ درصد باقیمانده دی متیل سولفو کسید (DMSO) بود. سرانجام به محلول فوق یک قطره روغن توئین ۸۰ اضافه

ضد التهابی می باشند و موجب سرکوب سیستم ایمنی بدن و القاء فراموشی می شوند (۱). کشف لیگاند های آندوژن کانابینوئیدها مانند آناندامید و دی آراشیدونیل گلیسرول که از طریق گیرنده های کانابینوئیدی عمل می نمایند، باعث شد که اثرات درمانی کانابینوئیدها بیشتر مورد توجه قرار گیرد (۲). کانابینوئیدها از طریق دو نوع گیرنده اصلی که CB1 و CB2 نامیده می شود اثرات خود را القاء می نمایند. گیرنده های CB1 به مقدار زیاد در بخش های مختلف سیستم عصبی مرکزی مانند قشر مغز، عقده های قاعده ای، آمیگدال و ساختارهای هیپوکامپ که نقش اساسی در حافظه و یادگیری دارند بیان می شوند، اما به مقدار کم در بافت های محیطی نیز یافت می شود. در حالیکه گیرنده های CB2 بیشتر در سلول های ایمنی محیطی بیان می شوند و مقدار آن در سیستم عصبی مرکزی بسیار کم است (۳). مطالعات مختلف نشان داده شده است که کانابینوئیدها و اپوئیدها هر دو با سیستم های نورترانسسمیتری مختلف نظیر دوپامین، سروتونین، گابا و نیتریک اکساید (۴) برهمکنش نشان می دهند و از این طریق موجب تغییرات پایدار و درازمدت در الگوهای رفتاری مختلف می شوند.

مطالعات نشان می دهد که نیتریک اکساید به عنوان یک پیک ثانویه در سیستم عصبی مرکزی و محیطی در تقویت دراز مدت سیناپسی و القاء اثرات کانابینوئیدها نقش مهمی بر عهده دارد (۵)، گزارش شده است که WIN55,212-2 (آگونیسست هر دو گیرنده CB1 و CB2) بیان نیتریک اکساید سنتاز را تعدیل می نماید (۶). آنزیم نیتریک اکساید سنتاز، تولید نیتریک اکساید را کاتالیز می نماید و تقویت درازمدت سیناپسی را تسهیل می نماید (۷). هیپوکامپ نقش اساسی در حافظه و یادگیری دارد (۸). مطالعات نشان می دهند که نیتریک اکساید و کانابینوئیدها به واسطه اثر روی هیپوکامپ می توانند حافظه و یادگیری را تحت تاثیر قرار دهند (۹). بنابراین در این مطالعه تاثیر L-NAME در ناحیه CA1 بر یادگیری وابسته به وضعیت کانابینوئیدها در مدل یادگیری اجتنابی مهارتی با استفاده

می شد و L-NAME بلافاصله قبل از آزمایش ها در سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد حل می شد.

روش جراحی و کانول گذاری در ناحیه هیپوکامپ پستی (CAI):

موش های کوچک آزمایشگاهی توسط تزریق کتامین هیدروکلرید (ketamine hydrochloride) (۱۰۰ mg/kg) و بعلاوه گزیلوزین (xylazine) (۱۰ mg/kg) بی هوش می شدند. بعد از بی هوشی حیوانات در دستگاه استریوتاکی قرار داده می شدند. دو کانول راهنما (۲۲ G) به صورت دو طرفه یک میلی متر بالاتر از محل تزریق، بر اساس اطلس پاکسینوس (Paxinos) قرار داده می شد (۱۰).

آزمون های رفتاری

روش اجتنابی مهارتی برای بررسی حافظه در موش های کوچک آزمایشگاهی در دو روز متوالی انجام می شد. در روز اول یا روز آموزش (training day) حیوان ها در دستگاه آموزش داده می شدند. در روز دوم یا روز آزمون (testing day) میزان حافظه حیوان های آموزش دیده بررسی می شد.

مرحله آموزش

در روش اجتنابی مهارتی مدل Step-down، هر حیوان به آرامی روی سکوی مکعبی دستگاه ارزیابی حافظه قرار می گیرد و مدت زمان توقف روی سکو (قبل از پایین آمدن) ثبت می شد. در صورتی که هر موش بیش از ۲۰ ثانیه روی سکو بماند، آن موش حذف می شد. بلافاصله بعد از پایین آمدن موش از مکعب چوبی و قرار گرفتن چهار پای موثر روی میله های فولادی به مدت ۱۵ ثانیه شوک الکتریکی (۱ هرتز، ۰/۵ ثانیه و ۴۵ میلی ولت مستقیم) دریافت می شد. شوک توسط یک محرک فولادی انتقال داده می شد (۱۱). مراحل آموزش در بین ساعت ۸ صبح الی ۲ بعد از ظهر انجام گرفت.

مرحله آزمون یا بررسی حافظه

جلسه آزمون ۲۴ ساعت بعد از آموزش با پروسه های مشابه آموزش انجام می شد به جز اینکه شوکی در این روز دریافت نمی شد. مدت زمان توقف موش روی سکو به عنوان معیار حافظه در موش اندازه گیری می شد که حداکثر زمان برای توقف موش روی سکو برابر با ۳۰۰ ثانیه بود.

اندازه گیری locomotion

به منظور اندازه گیری فعالیت حرکتی حیوانات از open-field استفاده شد. دستگاه open-field مورد استفاده در این تحقیق چوبی و به ابعاد ۴۰ × ۴۰ × ۳۰ سانتیمتر بود که به کمک علامت + که در کف دستگاه وجود داشت، کف دستگاه به چهار قسمت برابر تقسیم شده بود. تعداد دفعاتی که حیوان در مدت پنج دقیقه از روی این خطوط عبور می کرد، نمادی از فعالیت حرکتی حیوان بود.

تزریق درون مغزی دارو

برای تزریق دارو پس از برداشتن سیم داخل کانول راهنما، سر سوزن ۲۷ G دندانپزشکی که ۹ میلی متر طول داشت و به کت دان تیوب (cat down tube) نوزاد (شماره ۴) متصل بود، در داخل کانول راهنما ۲۲ G قرار داده شده، در هر کانول ۰/۵ میکرولیتر دارو در مدت ۹۰-۶۰ ثانیه تزریق می شد.

باخت شناسی

پس از کشتن حیوان ها با کلروفورم و با تزریق رنگ متیلن بلو ۱ درصد (۰/۵ μl) به داخل هر کانول، مغز از درون مجسمه بیرون آورده شد و درون فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت. پس از یک هفته با استفاده از تیغ جراحی در محل ورود کانول به درون مغز برش هایی داده شد، محل ورود کانول به مغز به وسیله میکروسکوپ لوپ مورد مطالعه قرار می گرفت.

تیمارهای دارویی و آزمایش های انجام شده

۱- آزمایش اول: بررسی تاثیر تزریق پس از آموزش

WIN55, 212-2 روی حافظه اجتنابی مهاری.

گروه اول و دوم بلافاصله پس از آموزش، سالیان و حامل را به صورت درون مغزی (intra-CA1) دریافت کردند. سه گروه دیگر مقادیر مختلف WIN55, 212-2 (۱، ۰/۵، ۰/۲۵) را بلافاصله پس از آموزش به صورت درون مغزی (intra-CA1) دریافت کردند، در روز آزمون گروه‌ها قبل از آزمون سالیان (۱ μl/mouse) یا حامل (۱ μl/mouse) را ۵ دقیقه قبل از آزمون دریافت داشتند. سه گروه دیگر بلافاصله بعد از آموزش WIN55,212-2 (۱ μg/mouse) را دریافت کردند و در روز آزمون مقادیر مختلف WIN55,212-2 (۱، ۰/۵، ۰/۲۵) را ۵ دقیقه قبل از آزمون به صورت درون مغزی (intra-CA1) دریافت کردند.

۲- آزمایش دوم: بررسی تاثیر تزریق درون مغزی

L-NAME بر حافظه اجتنابی تخریب شده ناشی از

WIN55, 212-2

چهار گروه اول سالیان را بلافاصله بعد از آموزش دریافت داشتند و در روز آزمون سالیان با مقادیر مختلف L-NAME (۳، ۰/۳، ۰/۱) را پنج دقیقه قبل از آزمون دریافت داشت. چهار گروه باقی مانده بلافاصله بعد از آموزش WIN55,212-2 (۱ μg/mouse) را دریافت کردند و در روز آزمون سالیان با مقادیر مختلف L-NAME (۳، ۰/۳، ۰/۱) را پنج دقیقه قبل از آزمون به صورت درون مغزی (intra-CA1) دریافت کردند.

۳- آزمایش سوم: بررسی تاثیر تزریق درون مغزی

L-NAME بر یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده

توسط WIN55, 212-2

تمامی گروه‌ها در روز آموزش بلافاصله بعد از آموزش WIN55,212-2 (۱ μg/mouse) را به صورت درون مغزی دریافت کردند و در روز آزمون مقادیر

مختلف L-NAME (۳، ۰/۳، ۰/۱) بعلاوه WIN55,212-2 (۱ μg/mouse) را دریافت کردند.

تجزیه و تحلیل آماری

در همه آزمایش‌ها، زمان توقف حیوان روی سکو به صورت میانه (Median) و چارک ثبت شد. به علت تفاوت‌های خاص و زیادی که در پاسخ‌های یادگیری حیوانات و همچنین ظرفیت یادگیری هر حیوان وجود دارد، داده‌ها با آزمون آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) برای داده‌های غیرپارامتریک (Kruskal-walis) و تجزیه و تحلیل شدند. برای بررسی جفت گروه‌ها از روش Mann-witthy U-test استفاده شد. به منظور تعیین وجود اختلاف معنی دار از نظر locomotion بین گروه‌ها، از روش آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و آزمون توکی (Tukey's test) استفاده گردید در تمام ارزیابی‌های آماری، حداقل  $P < 0.05$  معیار معنی دار بودن مقایسه بین گروه‌ها بوده است.

## یافته‌ها

آزمایش اول: نتایج تزریق پس از آموزش

WIN55,212-2 روی حافظه اجتنابی مهاری در

موش‌های کوچک آزمایشگاهی.

آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه Kruskal-Wallis و آزمون مکمل Mann-Whitney نشان داد که تزریق پس از آموزش (intra-CA1) WIN55,212-2 (۰/۲۵، ۰/۵، ۰/۱) حافظه را کاهش می‌دهد ( $P < 0.001$ )،  $H(4) = 22.40$  (شکل شماره ۱-الف).

آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه Kruskal-Wallis و آزمون مکمل Mann-Whitney نشان دادند که بکار بردن (۰/۵ و ۱ μg/mouse) WIN55,212-2 قبل از آزمون قادر به بهبود حافظه تخریب شده با WIN55,212-2 در روز آموزش می‌باشد ( $P < 0.001$ )،  $H(3) = 23.59$  (شکل شماره ۱-ب).

۳- آزمایش سوم: نتایج تزریقی درون مغزی L-NAME قبل از آزمون بر یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با WIN55, 212-2

آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه Kruskal-Wallis و آزمون مکمل Mann-Whitney نشان داد بکار بردن (3 μg/mouse) L-NAME قبل از آزمون، بازگشت حافظه القاء شده با WIN55, 212-2 روز آزمون را درموش‌هایی که در روز آموزش نیز تحت تاثیر WIN55,212-2 قرار داشتند، کاهش می‌دهد (ANOVA،  $H(3)=11/74$ ،  $P<0/001$ ) (شکل شماره ۳).

همچنین بررسی فعالیت حرکتی نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری از نظر فعالیت حرکتی بین گروه‌های مختلف وجود ندارد.

### بحث

مطالعات نشان می‌دهند که گیرنده‌های CB1 به مقدار زیادی در هیپوکامپ بیان می‌شوند. همچنین

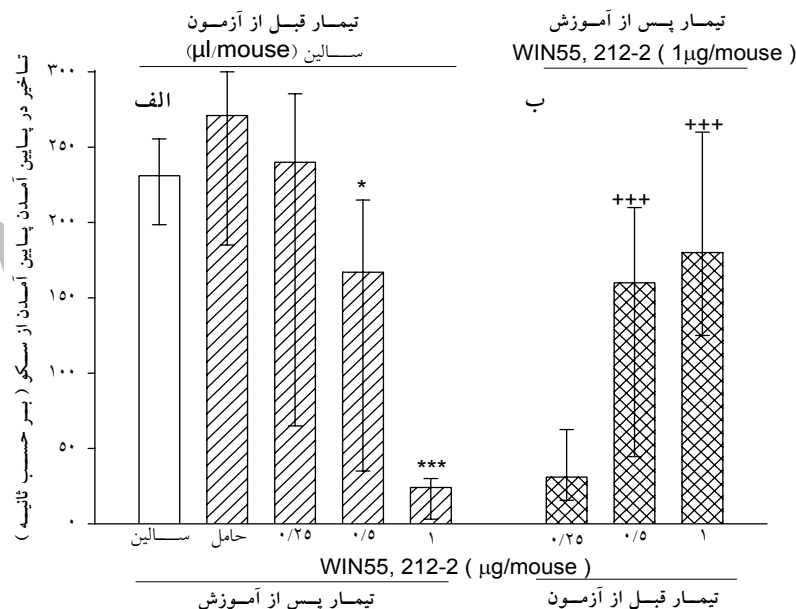
همچنین بررسی فعالیت حرکتی نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مختلف وجود ندارد.

۲- آزمایش دوم: نتایج تزریقی درون مغزی L-NAME قبل از آزمون روی حافظه تخریب شده توسط WIN55, 212-2

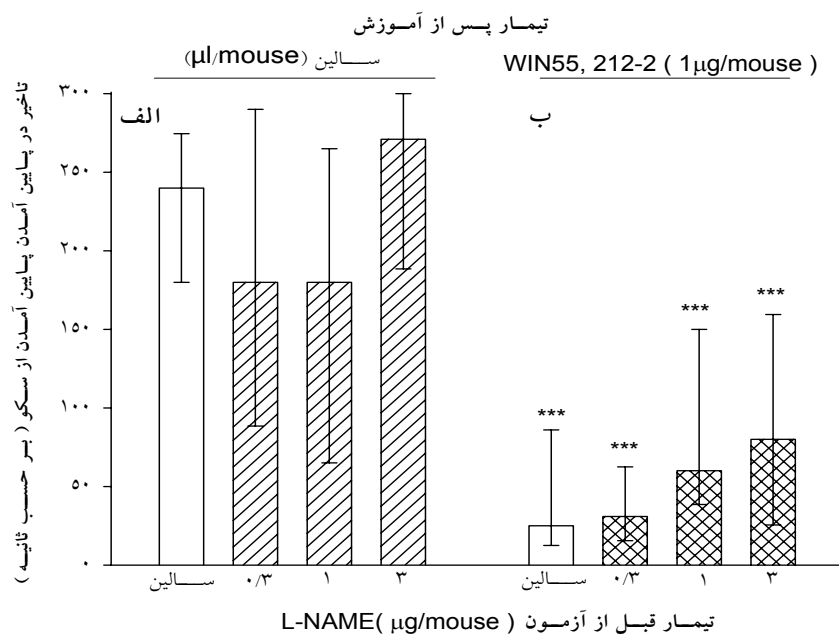
آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه Kruskal-Wallis نشان داد که بکار بردن L-NAME به تنهایی قبل از آزمون تاثیری روی حافظه اجتنابی مهاری ندارد (ANOVA،  $H(3)=4/09$ ،  $P>0/05$ )، (شکل شماره ۲-الف).

بعلاوه تحلیل واریانس یک طرفه Kruskal-Wallis مشخص نمود که بکار بردن L-NAME قبل از آزمون نمی‌تواند حافظه تخریب شده توسط تزریق بعد از آموزش WIN55,212-2 را تغییر دهد ( $H(3)=7/23$ ،  $P>0/05$ )، (ANOVA (شکل شماره ۲-ب).

همچنین بررسی فعالیت حرکتی نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های مختلف وجود ندارد.

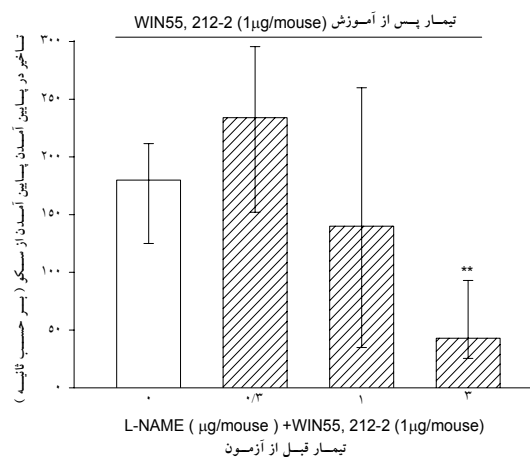


شکل شماره ۱: آثار تزریقی پس از آموزش WIN55,212-2 به تنهایی (الف) و اثر تزریق پس از آموزش و پیش از آزمون WIN55,212-2 بر حافظه اجتنابی مهاری (ب).  $P<0/05$  \* در مقایسه با گروه سالیین / سالیین و  $P<0/001$  +++ در مقایسه با سالیین / WIN55, 212-2 می‌باشد.



شکل شماره ۲: اثر L-NAME بر حافظه اجتنابی مهارتی (الف) و بر حافظه اجتنابی تخریب شده با WIN55, 212-2 (ب). ( $P < 0.001$ ) در مقایسه با گروه سالین / سالین می باشد.

آموزش آگونیست غیراختصاصی گیرنده‌های کانابینوئیدی، WIN55,212-2 به صورت درون مغزی در هیپوکامپ پستی به صورت وابسته به مقدار، سبب تخریب حافظه می شود. نتایج ما با مطالعات پیشین که نشان می دهد آگونیست گیرنده‌های کانابینوئیدی سبب تخریب حافظه می شود، موافق است (۱۳). گزارش شده است که آندوکانابینوئیدها از نورون‌های پس سیناپسی آزاد می شود و آزاد سازی نورترانسmitterهای مختلف را از نورون‌های پیش سیناپسی کاهش می دهد (۱۴). مطالعات اخیر نشان می دهند که گیرنده‌های CB1 در پایانه آکسونی نورون‌های گلوتاماتی در هیپوکامپ حضور دارد و انتقال پیام‌های گلوتاماتی را کنترل می نماید (۱۵). بنابراین این احتمال وجود دارد که تخریب حافظه توسط آگونیست گیرنده‌های CB1 به واسطه کاهش رهایش گلوتامات در هیپوکامپ صورت گیرد. به نظر می رسد فراموشی القاء شده با کانابینوئیدها، با اثر دارو روی فرآیند تثبیت حافظه صورت می گیرد (۱۶).



شکل شماره ۳: اثر L-NAME بر یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با WIN55, 212-2. ( $P < 0.01$ ) در مقایسه با گروه WIN55, 212-2 / 2 می باشد.

مطالعات نشان می دهد که آگونیست‌های گیرنده‌های CB1 می توانند حافظه و یادگیری را تحت تاثیر قرار دهند (۱۲). مطالعات ما نیز نشان می دهد که تزریق بعد از

نیتریک اکساید سنتاز در هیپوکامپ پشتی در یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با WIN55-212-2 (1 μg/mouse) به طور کامل با تزریق همان مقدار دارو، پنج دقیقه قبل از آزمون به حالت عادی بر می‌گردد. این نتایج نشان می‌دهد که WIN55-212-2 یادگیری وابسته به وضعیت ایجاد می‌نماید. یادگیری وابسته به وضعیت پدیده‌ای است که توسط برخی از داروهای مقلد حالات روانی در انسان ایجاد می‌شود. در این پدیده به یاد آوری اطلاعات تازه، تنها زمانی امکان‌پذیر است که جاندار در زمان به خاطر آوردن اطلاعات در همان شرایط فیزیولوژیک زمان کدبندی (encoding) قرار گیرد (۱۷). سیستم کانابینوئیدی و سیستم اپیوئیدی شباهت‌های زیادی با یکدیگر دارند، مطالعات پیشین نشان می‌دهند که مرفین یادگیری وابسته به وضعیت ایجاد می‌نماید و یادگیری وابسته به وضعیت ایجاد شده با مرفین با سیستم‌های نورترنس میتیری مختلف از جمله دوپامین، هیستامین، استیل‌کولین، گلو تامات، کانابینوئیدها و نیتریک اکساید (۱۸) برهمکنش نشان می‌دهد. با توجه به شباهت زیاد سیستم کانابینوئیدی و اپیوئیدی این احتمال وجود دارد که کانابینوئیدها نیز پاسخ مشابهی را ایجاد نمایند.

تحقیقات زیادی که روی یادگیری وابسته به وضعیت صورت گرفته است و داروهای متعددی که می‌توانند یادگیری وابسته به وضعیت ایجاد کنند، شناسایی و مورد بررسی قرار گرفته‌اند و برهمکنش آنها با سیستم‌های مختلف نیز مورد بررسی قرار گرفته است، اما مکانیسم واقعی یادگیری وابسته به وضعیت و ناحیه‌ای از مغز که در ایجاد یادگیری وابسته به وضعیت نقش دارد هنوز مشخص نیست. از طرف دیگر هیپوکامپ بخشی از مغز است که نقش اساسی در حافظه و یادگیری دارد (۱۹). همچنین نیتریک اکساید یکی از تعدیل‌کننده‌های اعمال نورون‌ها می‌باشد که در تغییر شکل سیناپسی، تقویت درازمدت سیناپسی و تثبیت حافظه درازمدت نقش دارد (۲۰). بنابراین در این مطالعه نقش مهار کننده آنزیم

نتایج ما در این پژوهش نشان می‌دهد که مهارکننده آنزیم نیتریک اکساید سنتاز L-NAME بازگشت حافظه توسط WIN55,212-2 روز آزمون را در موش‌هایی که در روز آموزش نیز تحت تاثیر WIN55,212-2 بوده‌اند کاهش می‌دهد. این نتایج نشان می‌دهد که L-NAME می‌تواند یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با WIN55,212-2 را مهار نماید. تحقیقات نشان می‌دهند که تزریق بعد از آموزش مهارکننده‌های نیتریک اکساید سنتاز، می‌تواند تثبیت حافظه را در مدل‌های مختلف حافظه (۲۱) از جمله در مدل یادگیری اجتنابی مهار تخریب نماید (۲۲). این نتایج موافق با نتایج دیگری می‌باشد که نشان می‌دهد فعال شدن گیرنده‌های کانابینوئیدی سبب افزایش سطح نیتریک اکساید می‌شود (۲۳). بنابراین کاهش سطح نیتریک اکساید توسط مهارکننده آنزیم نیتریک اکساید سنتاز ممکن است اثرات WIN55,212-2 در به یاد آوری اطلاعات کسب شده، بلوک نماید. بعلاوه فعال شدن گیرنده‌های آمینواسیدهای تحریکی، به ویژه گیرنده‌های NMDA موجب افزایش فعالیت آنزیم نیتریک اکساید سنتاز می‌شود (۲۴) و از این طریق موجب ایجاد اثرات شناختی و غیرشناختی مختلف می‌شود، در حالیکه مهارکننده‌های نیتریک اکساید سنتاز می‌توانند بسیاری از اثرات میانجی‌گری شده با گیرنده‌های NMDA را مهار نمایند (۲۱).

ملاحظه اثرات مهار L-NAME زمانی که به صورت همزمان با WIN55, 212-2 قبل از آزمون و به صورت درون مغزی در هیپوکامپ پشتی تزریق می‌شوند، این احتمال را مطرح می‌نماید که یادگیری وابسته به وضعیت القاء شده با WIN55,212-2، ساخت و رهایش نیتریک اکساید را افزایش می‌دهد، که این اثر توسط مهارکننده‌های نیتریک اکساید سنتاز خنثی شده و مهار می‌شود.

## References

1. Bratti CM, Kopf SR. A nitric oxide synthase inhibitor impairs memory storage in mice. *Neurobiol Learn Mem* 1996; 65: 197-201.
2. Bisogno T, Maurelli S, Melck D, De Petrocellis L, Di Marzo V. Biosynthesis, uptake, and degradation of anandamide and palmitoylethanolamide in leukocytes. *J Biol Chem* 1997; 272: 3315-3323.
3. Cuellar B, Fernandez AP, Lizasoain I, Moro M.A, Lorenzo P, Bentura M.L, et al. Up-regulation of neuronal NO synthase immunoreactivity in opiate dependence and withdrawal. *Psychopharmacology (Berl)* 2000; 148: 66-73.
4. Davies SN, Pertwee RG, Riedel G. Functions of cannabinoid receptors in the hippocampus. *Neuropharmacology* 2002; 42: 993-1007.
5. De Oliveira Alvares L, Genro BP, Diehl F, Quillfeldt JA. Differential role of the hippocampal endocannabinoid system in the memory consolidation and retrieval mechanisms. *Neurobiol Learn Mem* 2008; 90: 1-9.
6. Di Marzo V, Fontana A, Cadas H, Schinelli S, Cimino G, Schwartz JC, et al. Formation and inactivation of endogenous cannabinoid anandamide in central neurons. *Nature* 1994; 372: 686-691.
7. Domenici MR, Azad SC, Marsicano G, Schierloh A, Wotjak C.T, Dodt H.U, et al. Cannabinoid receptor type 1 located on presynaptic terminals of principal neurons in the forebrain controls glutamatergic synaptic transmission. *J Neurosci* 2006; 26: 5794-5799.
8. Everitt BJ, Robbins TW. Central cholinergic systems and cognition. *Annu Rev Psychol* 1997; 48: 649-684.
9. Farr SA, Flood JF, Morley J.E. The effect of cholinergic, GABAergic, serotonergic, and glutamatergic receptor modulation on posttrial memory processing in the hippocampus. *Neurobiol Learn Mem* 2000; 73: 150-167.
10. Garthwaite J, Garthwaite G, Palmer R.M, Moncada S. NMDA receptor activation induces nitric oxide synthesis from arginine in rat brain slices. *Eur J Pharmacol* 1989; 172: 413-416.
11. Hiramatsu M, Sasaki M, Kameyama T. Effects of dynorphin A-(1-13) on carbon monoxide-induced delayed amnesia in mice studied in a stepdown type passive avoidance task. *Eur J Pharmacol* 1995; 282: 185-191.
12. Izquierdo I, Da Cunha C, Rosat R, Jerusalinsky D, Ferreira M.B, Medina J.H. Neurotransmitter receptors involved in post-training memory processing by the amygdala, medial septum, and hippocampus of the rat. *Behav Neural Biol* 1992; 58: 16-26.
13. Jeon YJ, Yang KH, Pulaski JT, Kaminski N.E. Attenuation of inducible nitric oxide synthase gene expression by delta 9-tetrahydrocannabinol is mediated through the inhibition of nuclear factor- kappa B/Rel activation. *Mol Pharmacol* 1996; 50: 334-341.
14. Kobil T, Hazvi S, Dudai Y. Role of cortical cannabinoid CB1 receptor in conditioned taste aversion memory. *Eur J Neurosci* 2007; 25: 3417-3421.
15. Munro S, Thomas K.L, Abu-Shaar M. Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature* 1993; 365: 61-65.
16. Paxinos G, Franklin KBJ. *The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates*. 2nd Ed. Academic Press. 2001.
17. Prast H, Philippu A. Nitric oxide as modulator of neuronal function. *Prog Neurobiol* 2001; 64: 51-68.
18. Shulz D.E, Sosnik R, Ego V, Haidarliu S, Ahissar E. A neuronal analogue of state-



- dependent learning. *Nature* 2000; 403: 549-553.
19. Sullivan JM. Mechanisms of cannabinoid-receptor-mediated inhibition of synaptic transmission in cultured hippocampal pyramidal neurons. *J Neurophysiol* 1999; 82: 1286-1294.
  20. Telegdy G, Kokavszky R. The role of nitric oxide in passive avoidance learning. *Neuropharmacology* 1997; 36: 1583-1587.
  21. Wan RQ, Pang K, Olton DS. Hippocampal and amygdaloid involvement in nonspatial and spatial working memory in rats: effects of delay and interference. *Behav Neurosci* 1994; 108: 866-882.
  22. Wilson RI, Yanovsky J, Godecke A, Stevens DR, Schrader J, Haas H.L. Endothelial nitric oxide synthase and LTP. *Nature* 1997: 386, 338.
  23. Xu X, Boshoven W, Lombardo B, Spranger J. Comparison of the amnesic effects of NMDA receptor antagonist MK-801 and nitric oxide synthase inhibitors: L-NAME and L-NOARG in goldfish. *Behav Neurosci* 1998; 112: 892-869.
  24. Zarrindast MR, Askari E, Khalilzadeh A, Nouraei N. Morphine state-dependent learning sensitization and interaction with nitric oxide. *Pharmacology* 2006; 78: 71-66.

Archive of SID