

مقاله پژوهشی

اثر حفاظتی وراپامیل بر اختلال حافظه و یادگیری ناشی از مت آمفتامین در موش صحرایی

مریم نوربخش نیا^{*}، ندا نظری زاده دهکردی، سیامک بهشتی

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان

پذیرش: ۲۲ آذر ۹۵

دریافت: ۱۶ آبان ۹۵

چکیده

مقدمه: مت آمفتامین یک محرک قدرتمند سیستم عصبی مرکزی است که عملکرد نوروترنسمیترهای خاصی در مغز را تقلید می کند. مت آمفتامین باعث آزادسازی دوپامین، سروتونین و افزایش سطح گلوتامات در مغز می شود. سوء مصرف مت آمفتامین می تواند باعث اختلال در عملکردهای شناختی و آسیب به سیستم عصبی گردد. وراپامیل مهارکننده کانال های کلسیمی حساس به ولتاژ نوع L است که تمایل بالایی جهت اتصال به زیر واحد α کانال کلسیمی دارد. از آن جا که کلسیم یک میانجی اصلی سمیت عصبی ناشی از مصرف مت آمفتامین است مهار کانال های کلسیمی و متعاقباً کاهش ورود کلسیم احتمالا می تواند از اثرات تخریبی مت آمفتامین بر یادگیری و حافظه جلوگیری نماید.

روش ها: در این تحقیق از موشهای صحرایی نر در محدوده وزنی ۲۲۰ تا ۲۴۰ گرم استفاده شد. تزریق مزمن مت آمفتامین با غلظت ۲ mg/kg به مدت ۵ روز پیاپی و به صورت داخل صفاقی انجام گرفت. پنجمین روز، روز آموزش بود و تست به خاطر آوری ۲۴ ساعت پس از آموزش صورت گرفت. وراپامیل هیدوکلراید با غلظتهای (۱۰، ۵، ۲/۵) mg/kg به صورت حاد یک ساعت قبل از مرحله به خاطر آوری به روش داخل صفاقی تزریق گردید و در نهایت اثر وراپامیل بر تخریب حافظه القاء شده توسط تزریق مزمن مت آمفتامین بررسی گردید.

یافته ها: نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد که تزریق مت آمفتامین به شکل معناداری باعث تخریب یادگیری احترازی غیرفعال و حافظه گردید. تزریق وراپامیل با غلظت بالاتر ۱۰ mg/kg نیز باعث اختلال در یادگیری شد. از طرفی، تزریق وراپامیل پس از دریافت مت آمفتامین به شکل معناداری تخریب حافظه ایجاد شده ناشی از مت آمفتامین در موش های صحرایی را کاهش داد.

نتیجه گیری: به نظر می رسد وراپامیل می تواند به عنوان یک ماده محافظت کننده نورونی در اختلال حافظه ایجاد شده توسط مت آمفتامین در نظر گرفته شود.

واژه های کلیدی: احترازی غیرفعال، مت آمفتامین، موش صحرایی، وراپامیل، یادگیری

مقدمه

سادگی در آب، الکل، فرمالین و متیل سولفوکسید حل می گردد [۱]. مت آمفتامین به علت سهولت سنتز از پیش سازهای در دسترس، رتبه دوم جهانی سوء مصرف مواد را بعد از کانابیس ها به خود اختصاص داده است [۲]. مت آمفتامین یک ماده مقلد سمپاتیک است و با تقلید دو دسته از نوروترانسمیترها یعنی کاتکول آمینها (شامل دوپامین و نوراپی نفرین) و ایندول آمین ها مثل سروتونین، بر روی دستگاه عصبی مرکزی اثر می گذارد. البته مت آمفتامین بیشترین اثر خود را با تقلید کردن از دوپامین می گذارد. همچنین مت آمفتامین آنزیم مونو آمین اکسیداز که مسئول تجزیه

مت آمفتامین یا نام کامل تر آن متیل آمفتامین یک ماده ای محرک بسیار اعتیادآور است که سیستم اعصاب مرکزی را به شدت متأثر می سازد. مت آمفتامین که با نام های کریستال، یخ و شیشه نیز شناخته می شود به صورت پودری سفید و شفاف است که بو ندارد، مزه ای آن تلخ است و به

^{*} نویسنده مسئول مکاتبات: m.noorbakhshnia@sci.ui.ac.ir
وبگاه مجله: http://ijpp.phypha.ir
پست الکترونیکی: ijpp@phypha.ir

نوروترانسسمیترهای ترشح شده است را مهار می‌کند و در نتیجه میزان بیشتری نوروترانسمیتر مونوآمین در دسترس قرار می‌گیرد [۳]. یکی از اولین وقایع بعد از مصرف مت آمفتامین فعال شدن میکروگلیاها و بروز آسیب‌های نورودژنراتیو ناشی از عملکرد آن‌ها است. با وجود اینکه فعال شدن میکروگلیا برای ایجاد پاسخ ایمنی مناسب لازم است اما فعال شدن بیش از اندازه آن می‌تواند باعث آسیب‌های توکسیک شود. این آسیب‌های توکسیک از طریق چندین مسیر اعمال می‌شوند که شامل تولید سیتوکین‌های پیش التهابی مثل اینترلوکین‌ها مثل IL-1 β , IL-6 و تومور نکروز فاکتور آلفا (TNF- α) است. این سیتوکین‌ها موجب تحریک میکروگلیا و آزاد شدن گلوتامات و مهار بازجذب آن می‌شوند. این فرایند منجر به تولید رادیکال‌های آزاد نیتریک اکساید (NO) و سایر رادیکال‌های مشتق از نیتروژن می‌گردد. در مجموع، فعالیت بیش از اندازه میکروگلیا می‌تواند باعث تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن و نیتروژن و پروستاگلاندین شود و از طریق ایجاد واکنش‌های التهابی فرایند نورودژنراسیون را پیش برد [۴].

وراپامیل هیدروکلراید داروی مهارکننده کانال‌های کلسیمی حساس به ولتاژ نوع L است که در سال ۱۹۸۲ توسط سازمان غذا و داروی آمریکا به تصویب رسیده است. کانال‌های کلسیمی نوع L که با نام کانال‌های دی هیدروپیریدینی نیز شناخته می‌شوند، دارای ۴ زیر واحد (α , β , γ , δ) هستند. مهارکننده‌های کانال کلسیمی گروه متنوعی از داروها هستند که بر اساس ساختار شیمیایی، فارماکوکینتیک و کاربردهای درمانی در سه گروه دی هیدروپیریدین، بنزودیازپین و فیل آلکیل آمین طبقه‌بندی می‌شوند. وراپامیل در گروه فیل آلکیل آمین قرار داشته و میل ترکیبی بالایی جهت اتصال به زیر واحد α دارد. این زیر واحد حاوی منفذ هدایت یون کلسیم است و وراپامیل از این طریق به طور انتخابی ورود یون کلسیم به داخل سیستم عصبی مرکزی و محیطی را مهار می‌کند [۵].

ورود کلسیم به داخل نورون آغازگر شکل‌گیری (Long term potentiation) LTP است که یک شکل از انعطاف پذیری سیناپسی و یکی از مکانیسم‌های سلولی حافظه و یادگیری است. پیشنهاد شده که شکل‌گیری حافظه کوتاه مدت وابسته به فعالیت گیرنده‌های NMDA است درحالی‌که شکل‌گیری حافظه بلندمدت به دلیل فعالیت کانال‌های کلسیمی

حساس به ولتاژ است [۶] و یکسری از مطالعات نشان داده که مسدودکننده‌های کانال‌های کلسیمی اثر تخریبی یا اختلالی در ایجاد و بقای یادگیری و حافظه دارند [۷]. غلظت یون کلسیم در داخل سلول ۱۰۰۰۰ برابر کمتر از غلظت آن در خارج از سلول است و هرگونه تغییر در غلظت کلسیم منجر به تغییر در عملکرد سلول خواهد شد. یکی از تنظیم‌کننده‌های مهم تعادل کلسیم میزان عملکرد و بیان کانال‌های کلسیمی حساس به ولتاژ نوع L است که جریان طولانی مدت کلسیم به داخل سلول را میانجی‌گری می‌کنند. در بیماری آلزایمر افزایش در تراکم این کانال‌ها در منطقه هیپوکمپ مشاهده شده که با افزایش نفوذ کلسیم و مرگ نورون‌ها در این منطقه همراه است. آزمایشات بالینی با وراپامیل که به راحتی از سد خونی- مغزی عبور می‌کند در بهبود زوال عقل اثر بخشی متوسطی را نشان داده است. در روند پیری نیز فعالیت و بیان کانال‌های کلسیمی نوع L در ناحیه CA1 هیپوکمپ افزایش می‌یابد که این تغییرات منجر به ورود بالای کلسیم به داخل سلول شده و افزایش کلسیم داخل سلولی منجر به نقص حافظه در پیری می‌شود. تحقیقات نشان می‌دهد که آنتاگونیست کانال‌های کلسیمی نوع L می‌تواند این نقص حافظه را بهبود بخشد [۸]، همچنین در روند پیری تولید فاکتورهای التهابی همچون سایتوکاین‌ها، فاکتور TNF α و NO افزایش می‌یابد که با افزایش فعالیت کانال‌های کلسیمی نوع L همراه است. وراپامیل آنتاگونیست کانال‌های کلسیمی نوع L به طور مستقیم با اثر بر میکروگلیاها و آستروسیت‌ها و کاهش فعالیت آن‌ها دارای خاصیت ضد التهابی است [۹].

افزایش کلسیم درون سلولی در شرایطی مثل مصرف مت آمفتامین از مسیرهای مختلفی باعث ایجاد نوروتوکسیسیته در نورونها می‌شود، در واقع کلسیم یک واسطه گر اصلی نوروتوکسیسیته ناشی از مصرف مت آمفتامین است. وراپامیل با اتصال به زیر واحد α کانال کلسیمی نوع L و مهار ورود کلسیم و همچنین با کاهش فعالیت میکروگلیاها و در نتیجه مهار آزادسازی فاکتورهای پیش التهابی می‌تواند مهارکننده آپوپتوز و بسیاری دیگر از اثرات مت آمفتامین باشد [۱۰]. در این تحقیق به بررسی نقش احتمالی وراپامیل بر اختلال حافظه و یادگیری احترازی غیر فعال ناشی از مت آمفتامین در موش صحرایی پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

به منظور انجام این تحقیق از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستاردر محدوده وزنی ۲۲۰ تا ۲۴۰ گرم استفاده شد. حیوانات در قفس‌های استاندارد نگهداری شده و دسترسی آسان به آب و غذای کافی داشتند. حیوانات در حیوانخانه گروه زیست‌شناسی دانشگاه اصفهان تحت شرایط تهویه مناسب و با دوره روشنایی/ تاریکی ۱۲ ساعته و در دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد پرورش داده شدند. جنبه‌های اخلاقی کار با حیوانات به وسیله کمیته تحصیلات تکمیلی گروه زیست‌شناسی دانشگاه اصفهان مورد تایید قرار گرفت.

مت‌آمفتامین هیدروکلراید و وراپامیل هیدروکلراید از شرکت سیگما آلدریج خریداری شده و در محلول سالین ۰/۹ درصد حل می‌شدند. گروه دریافت‌کننده مت‌آمفتامین به صورت روزانه یک مرتبه و در زمان‌های مشخص به مدت ۵ روز متوالی به صورت درون صفاقی مت‌آمفتامین با دوز ۲ mg/kg دریافت نمودند [۱۱]. گروه‌های دریافت‌کننده وراپامیل، نیز این ماده را با دوزهای ۱۰، ۵، ۲/۵ یک بار و یک ساعت قبل از مرحله به خاطر آوری دریافت نمودند.

گروه‌های دریافت‌کننده توام مت‌آمفتامین- وراپامیل به مدت ۵ روز مت‌آمفتامین دریافت کردند که آخرین دریافت مت‌آمفتامین یک ساعت قبل از مرحله آزمون یادگیری صورت گرفت و در روز دوم یعنی روز تست، یک ساعت قبل از مرحله به خاطر آوری، وراپامیل تزریق شد. برای ارزیابی حافظه از روش یادگیری احترازی غیر فعال و دستگاه شاتل باکس استفاده شد. دستگاه شاتل باکس از دو اتاقک تاریک و روشن که بوسیله درب گیوتینی متحرک از هم جدا شده، تشکیل شده است. ناحیه تاریک دارای سطح شبکه مانند برای انتقال جریان الکتریکی می‌باشد. جهت انجام تست یادگیری در روز اول (Training trial) یا روز آموزش، موش صحرایی در اتاقک روشن پشت به درب گیوتینی قرار داده می‌شد پس از ۵ ثانیه درب برداشته شده، برای هر حیوان تمایل ورود به ناحیه تاریک ثبت می‌گردید (مدت زمانی که طول می‌کشد تا حیوان برای اولین بار از اتاقک روشن وارد اتاقک تاریک شود). پس از ورود حیوان به اتاقک تاریک درب بین دو اتاقک بسته شده و حیوان پس از ۳۰ ثانیه از اتاقک تاریک خارج می‌گردید. قبل از اجرای مرحله دوم موش‌های صحرایی به مدت ۳۰ دقیقه در قفس خود

قرار می‌گرفتند و پس از این زمان مرحله دوم تست انجام می‌شد. در این مرحله مجدداً حیوان پشت به درب گیوتینی در اتاقک روشن قرار داده می‌شد و پس از ۵ ثانیه درب برداشته می‌گردید و به محض ورود حیوان به اتاقک تاریک و بستن درب گیوتینی، از طریق میله‌های کف اتاقک تاریک شوک الکتریکی با جریان ۱/۱ میلی‌آمپر، فرکانس ۵۰ هرتز و به مدت ۱/۵ ثانیه اعمال می‌شد. پس از دریافت شوک حیوان به مدت ۳۰ ثانیه در اتاقک تاریک باقی می‌ماند و سپس خارج شده و به قفس انتقال داده می‌شد. پس از ۲ دقیقه حیوان مجدداً درون دستگاه قرار داده می‌شد و بعد از ۵ ثانیه درب گیوتینی باز می‌شد و تمایل حیوان جهت ورود به ناحیه تاریک ثبت می‌گردید، این زمان تا حداکثر ۱۲۰ ثانیه تاخیر ادامه داشت و در صورت ورود به ناحیه تاریک دریافت مجدد شوک صورت می‌گرفت این مرحله ادامه می‌یافت تا حیوان یاد بگیرد در محدود ۱۲۰ ثانیه ای که ثبت می‌شد وارد ناحیه تاریک نگردد. بعد از گذشت ۲۴ ساعت و در روز دوم (مرحله Testing trail) یا روز به خاطر آوری، حیوان پشت به درب گیوتینی در ناحیه روشن قرار داده می‌شد و پس از ۵ ثانیه درب گیوتینی باز شده و مدت زمان تاخیر حیوان برای ورود به ناحیه تاریک (Step-through Latency, STL)، زمان سپری شده در اتاقک تاریک (Time Spent in Dark Compartment, TDC) و تعداد دفعات رفت و آمد بین دو اتاقک تاریک و روشن در مدت ۶۰۰ ثانیه ثبت می‌گردید.

آنالیز آماری در بین گروه‌های مختلف با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه (One Way ANOVA) صورت گرفت و سپس برای بررسی جفت گروه‌ها از Tukey Post test استفاده شد، در نهایت داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار (Mean $\pm$ SEM) برای هر گروه در نظر گرفته شد. در تمام موارد $p < 0.05$ بعنوان سطح معنا دار بودن محاسبه گردید.

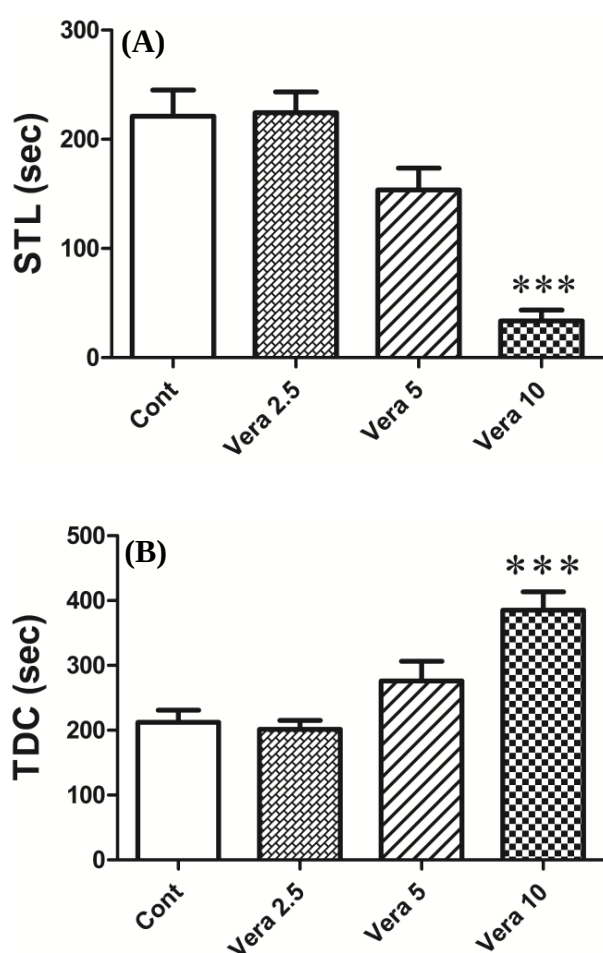
نتایج

در روش یادگیری اجتنابی غیر فعال کاهش مدت زمان تاخیری برای ورود به اتاقک تاریک (STL) و افزایش مدت زمان ماندن در اتاقک تاریک (TDC) بهترین معیارها برای ارزیابی حافظه می‌باشد. در گروه دریافت‌کننده وراپامیل مدت

در شرایطی استفاده از مت آمفتامین باعث کاهش معنادار اثر تخریبی مت آمفتامین بر حافظه و یادگیری احترازی غیر فعال می‌گردد.

بحث

هدف از این مطالعه بررسی اثر وراپامیل بر اختلال حافظه و یادگیری احترازی غیر فعال ایجاد شده توسط مت آمفتامین در موش صحرایی بود. روش یادگیری احترازی غیر فعال یکی از روش‌های ارزیابی حافظه است، در این مدل حیوان یاد می‌گیرد برای دوری از حوادث مضر (شوک الکتریکی) تمایل ذاتی خود را در رفتن به اتاقک تاریک سرکوب نماید و می‌توان با استفاده از آن اثر عوامل مختلف را بر حافظه بررسی کرد.

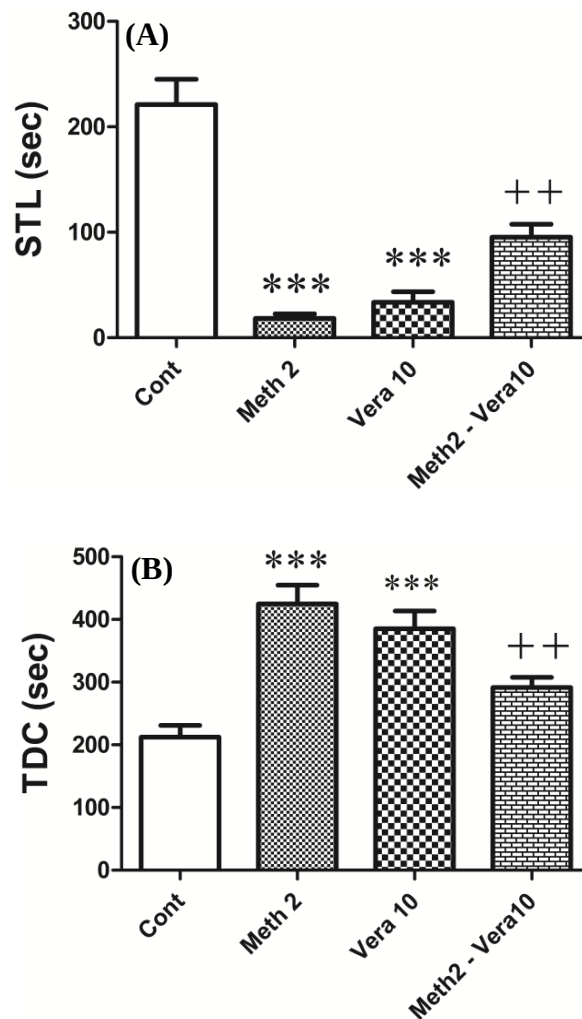


نمودار ۱- اثر وراپامیل بر حافظه و یادگیری. (A) اثر دوزهای متفاوت وراپامیل (Vera) بر مدت زمان تاخیری برای ورود به اتاقک تاریک (STL) در روز به خاطر آوری. (B) اثر دوزهای متفاوت وراپامیل (Vera) بر مدت زمان توقف در اتاقک تاریک (TDC). داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار نشان داده شده است. ***: $p < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل، $n = 8$.

زمان تاخیر در ورود به اتاقک تاریک در روز اول (قبل از دریافت شوک الکتریکی) در همه گروه‌ها تقریباً یکسان بود و با هم اختلاف معناداری نشان نداد (داده‌ها نشان داده نشده است) که این امر نشان می‌دهد قبل از دریافت شوک تمایل حیوانات برای ورود به ناحیه تاریک در گروه‌های مختلف اختلاف معناداری ندارد ولی در روز دوم در گروه دریافت‌کننده وراپامیل با دوز ۱۰ mg/kg، تمایل حیوان برای ورود به اتاقک تاریک به صورت معناداری نسبت به گروه کنترل افزایش یافت [F (3, 28) = 21/39, $p < 0.001$] اما در گروه دریافت‌کننده وراپامیل با دوزهای کمتر ۵ mg/kg، ۲/۵ تفاوت معناداری نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد (نمودار ۱A). همچنین نتایج ما نشان داد که مدت زمان توقف در اتاقک تاریک در روز دوم در گروه‌های دریافت‌کننده وراپامیل با دوز ۱۰ mg/kg به شکل معناداری نسبت به گروه کنترل افزایش پیدا کرده بود [F (3, 28) = 12/61, $p < 0.001$] اما در گروه دریافت‌کننده وراپامیل با دوزهای ۵ mg/kg و ۲/۵ تفاوت معناداری نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد (نمودار ۱B). با توجه به نتایج، وراپامیل با دوز ۱۰ mg/kg جهت انجام آزمایشات بعدی انتخاب شد.

مقایسه گروه‌های کنترل، وراپامیل، مت آمفتامین و مت آمفتامین-وراپامیل در روز دوم، بیانگر وجود اختلاف معنادار بین گروه‌ها بود [F (3, 28) = 39/75, $p < 0.001$]. در گروه دریافت‌کننده مت آمفتامین به شکل مزمن با دوز ۲ mg/kg مدت زمان ورود به ناحیه تاریک نسبت به گروه کنترل به صورت معناداری کاهش پیدا کرده بود ($p < 0.001$)، اما در گروه دریافت‌کننده هر دو ماده مت آمفتامین و وراپامیل این زمان به صورت معناداری نسبت به گروه مت آمفتامین افزایش نشان داد ($p < 0.001$). همچنین نتایج مربوط به مدت زمان ماندن در اتاقک تاریک نیز بیانگر وجود اختلاف معنادار بین گروه‌ها بود [F (3, 28) = 15/69, $p < 0.001$] (نمودار ۲B). بر اساس نتایج مت آمفتامین باعث افزایش معنادار مدت زمان ماندن در تاریکی نسبت به گروه کنترل گردید ($p < 0.001$). حال آنکه تزریق وراپامیل پس از دوره ۵ روزه دریافت مت آمفتامین باعث کاهش معنادار مدت زمان ماندن در تاریکی نسبت به گروه مت آمفتامین شد ($p < 0.001$). چنین به نظر می‌رسد که اگرچه دوز بالاتر وراپامیل به تنهایی باعث تخریب حافظه و یادگیری احترازی غیر فعال می‌شود اما

غیر فعال است [۱۲]. North و همکاران در سال ۲۰۱۳ گزارش کردند مصرف مزمن مت آمفتامین منجر به کاهش انعطاف پذیری سیناپسی ناحیه هیپوکمپ می شود و نقص در حافظه کوتاه مدت را به دنبال دارد و همچنین در روزهای ۷ و ۱۴ و ۲۱ بعد از ترک نیز نقص در حافظه فضایی دیده می شود که با کاهش انعطاف پذیری هیپوکمپ همراه است [۱۳]. در مجموع، مت آمفتامین از طریق مکانیسم های مختلف سبب آسیب به سلول های عصبی در مناطق مختلف مغز از جمله هیپوکمپ و اختلال در حافظه می شود. مت آمفتامین به دلیل شباهت ساختاری با دوپامین و از طریق اتصال به ترانسپورتر دوپامینی از طریق انتشار وارد پایانه های دوپامینرژیک می شود و با اتصال به ناقل های وزیکولی به داخل وزیکول ها انتشار یافته و تجمع پیدا می کند و سبب به هم خوردن pH وزیکولها و در نتیجه آزادسازی دوپامین به داخل سیتوزول می گردد. همچنین آنزیم مونوآمین اکسیداز (آنزیم مسئول تجزیه نوروترنسمیترهای ترشح شده) را مهار می کند و دوپامین بیشتری در دسترس قرار می گیرد. دوپامین در داخل سیتوزول تجزیه می گردد و ترکیبات فعال اکسیژن و هیدروژن پراکسیداز تولید می کند که این ترکیبات باعث آسیب لیپیدها، پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک می شود [۱۴]. همچنین مت آمفتامین می تواند از طریق تحریک آزادسازی رادیکال های آزاد اکسیژن و سیتوکین ها از سلول های گلیا، سبب افزایش سطح گلوتامات در خارج از سلول در نواحی مثل استریاتوم گردد. افزایش آزادسازی گلوتامات سبب تحریک رسپتورهای NMDA بر پایانه های دوپامینرژیک شده و باعث آزاد شدن یون کلسیم در فضای داخل سلول می شود، افزایش یون کلسیم نیز منجر به افزایش تولید نیتریک اکساید شده که خود می تواند با سوپر اکساید ترکیب شده و پر اکسی نیتریت تولید کند. این ترکیب از طریق مسیرهای وابسته به رتیکولوم آندوپلاسمیک و میتوکندری سبب آپوپتوز و مرگ نورونی می شود [۱۵]. همچنین تحقیقات اخیر نشان داده است که استفاده از مت آمفتامین باعث افزایش بیان ژن مربوط به کانالهای کلسیمی وابسته به ولتاژ و افزایش تعداد این کانالها و طبیعتا افزایش ورود یون کلسیم به داخل سلول می گردد و به هم خوردن هومئوستازی کلسیم داخل سلولی تحت تاثیر مت آمفتامین می تواند عواقب ویرانگری برای سلول به همراه داشته باشد و منجر به مرگ سلولی گردد [۱۶].



نمودار ۲- اثر مصرف توام وراپامیل (Vera) و متامفتامین (Meth) بر حافظه و یادگیری. (A) اثر مصرف توام وراپامیل و متامفتامین بر STL. (B) اثر مصرف توام وراپامیل و متامفتامین بر TDC. داده ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار نشان داده شده است. *** $p < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل و ++ $p < 0.01$ در مقایسه با گروه مت آمفتامین، $n=8$.

در این مطالعه نشان داده شد که تزریق مزمن مت آمفتامین به مدت ۵ روز و دوز ۲ mg/kg باعث کاهش معنا دار STL و افزایش معنا دار TDC نسبت به گروه کنترل می شود که این امر به دلیل تخریب در بازخوانی حافظه در تست یادگیری احترازی غیر فعال است. نتایج این تحقیق نتایج قبلی را تأیید می کند. در این رابطه، Murnane و همکاران در سال ۲۰۱۲ گزارش کردند که مصرف مزمن مت آمفتامین موجب اختلال در عملکرد یادگیری احترازی غیر فعال و کاهش قابل توجهی در غلظت دوپامین، سروتونین و متابولیت های آن ها در مناطق مختلف مغزی می شود که به ویژه تغییر غلظت دوپامین در جسم مخطط قدامی مسئول اختلال در تست یادگیری احترازی

[۱۹]. از مکانیسم های احتمالی که وراپامیل توانسته است با اثرات مخرب مت آمفتامین مقابله کند می توان مهار کانال های کلسیمی حساس به ولتاژ و در نهایت کاهش ورود کلسیم به داخل سلول، اتصال به زیر واحد کاتالیزوری gp91 که به طور عمده در غشای پلاسمایی نوتروفیل ها، میکروگلیاها و ماکروفاژها واقع است و مهار فعالیت نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید (NADPH) اکسیداز و در نتیجه کاهش تولید سوپراکسیدها، نیتریک اکساید و سایتوکاین هایی همچون $TNF\alpha$ را بر شمرد [۲۰].

نتیجه گیری

در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که وراپامیل در دوزهای زیاد اگرچه به تنهایی باعث تخریب حافظه می شود اما از طرفی باعث برگشت معنادار اختلال در حافظه ناشی از مت آمفتامین می گردد. به نظر می رسد که اثر مهاری وراپامیل بر کانالهای کلسیم و جلوگیری از ورود مقادیر اضافه کلسیم ناشی از مت آمفتامین و نیز اثر مهاری وراپامیل بر واکنشهای اکسیداتیو و نورودژنراتیو فعال شده توسط مت آمفتامین در این یافته نقش داشته باشند. با این حال تحقیقات بیشتری در این زمینه مورد نیاز است.

سپاسگزاری

این مطالعه بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد ندا نظری زاده می باشد که در گروه زیست شناسی دانشگاه اصفهان و با حمایت مالی بخش تحصیلات تکمیلی دانشگاه اصفهان انجام شده است.

تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

سهم نویسندگان

م.ن: انجام مطالعه و نگارش مقاله؛ ن.ن.د: ایده، طراحی، نظارت بر حسن اجرای مطالعه و نگارش مقاله؛ س.ب: مشاوره و اجرای بخشی از مطالعه.

در این مطالعه نشان داده شد که تزریق حاد وراپامیل با دوز 10 mg/kg باعث کاهش معنا دار STL و افزایش معنادار TDC نسبت به گروه کنترل می شود که این امر به دلیل تخریب در بازخوانی حافظه در تست یادگیری احترازی غیر فعال است. نتایج این تحقیق نتایج قبلی را تایید می کند، در این رابطه، لشگری و همکاران در سال ۲۰۰۶ گزارش نمودند که تجویز مزمن وراپامیل باعث کاهش حافظه و القای LTP می شود [۱۷]. مورایس و همکاران در سال ۱۹۹۵ بیان نمودند مسدود کننده های کانال کلسیمی اثر تخریبی یا اختلالی در ایجاد و بقای یادگیری و حافظه دارند [۷].

مسعودیان و همکاران در سال ۲۰۱۴ گزارش دادند مسدود کننده های کانال کلسیمی مثل وراپامیل اثری در مرحله اکتساب و تثبیت حافظه ندارند ولی به خاطرآوری حافظه را تخریب می کنند. مکانیسم سلولی و مولکولی دقیق اثر تخریبی وراپامیل بر حافظه و یادگیری شناخته نشده است. وراپامیل با میل ترکیبی بالا به زیر واحد α کانال کلسیمی نوع L متصل می شود و به صورت انتخابی ورود کلسیم به سیستم عصبی مرکزی را مهار می کند از آن جا که این کانال ها نقش مهمی در فعالیت سلول های عصبی، شکل گیری و انتقال پتانسیل عمل و آزادسازی نوروترانسمیتر ایفا می کنند و با توجه به این که میزان کلسیم داخل سلولی (در یک حد مشخص) نقش مهمی در افزایش حافظه دارد می توان انتظار داشت که مهار این کانال ها اثر تخریبی بر فرآیند یادگیری و حافظه دارد [۱۸]. از طرفی، در این مطالعه نشان داده شد که در گروه هایی که پس از دریافت مزمن مت آمفتامین با دوز 2 mg/kg ، وراپامیل با دوز 10 mg/kg دریافت کرده اند نسبت به گروه دریافت کننده مت آمفتامین با دوز 2 mg/kg ، STL افزایش یافته و TDC کاهش پیدا کرده است. اثر محافظت نورونی وراپامیل در چندین مدل آسیب نشان داده شده است که از آن جمله می توان به کاهش جراحت های حاد کبدی، مهار تولید

سوپراکسیدها در نوتروفیل ها و ماکروفاژها، جلوگیری از آپوپتوز ناشی از آمفتامین در نورون های مخچه موش، مهار مرگ سلول های عصبی استیل کولین ترانسفراز در قشر مغز ناشی از ضایعات هسته های قاعده ای و محافظت از مرگ نورون های قشری مغز ناشی از آمیلوئید β در بیماری آلزایمر اشاره نمود

فهرست منابع

- [1] Ciccarone D, Stimulant abuse: pharmacology, cocaine, methamphetamine, treatment, attempts at pharmacotherapy. *Prim care* 38 (2011) 41-58.
- [2] Krasnova I, Cadet J, Methamphetamine toxicity and messengers of death. *Brain Res Rev* 60 (2009) 379-407.
- [3] Kish S, Pharmacologic mechanisms of crystal meth. *CMAJ* 178 (2008) 1679-1682.
- [4] Sekine Y, Ouchi Y, Sugihara G, Takei N, Yoshikawa E, Nakamura K, Iwata Y, Tsuchiya KJ, Suda S, Suzuki K, Kawai M, Takebayashi K, Yamamoto S, Matsuzaki H, Ueki T, Mori N, Gold MS, Cadet JL, Methamphetamine causes microglial activation in the brains of human abusers. *J Neurosci* 28 (2008) 5756-5761.
- [5] Striessnig J, Grabner M, Mitterdorfer J, Hering S, Sinnegger MJ, Glossmann H, Structural basis of drug binding to L-Ca²⁺ channels. *Trends Pharmacol Sci* 19 (1998) 108-115.
- [6] Borroni AM, Fichtenholtz H, Woodside BL, Teyler TJ, Role of voltage dependent calcium channel long-term potentiation (LTP) and NMDA LTP in spatial memory. *J Neurosci* 20 (2000) 9272-9276.
- [7] Maurice T, Bayle J, Privat A, Learning impairment following acute administration of the calcium channel antagonist nimodipine in mice. *Behav Pharmacol* 6 (1995) 167-175.
- [8] Batuecas A, Pereira R, Centeno C, Pulido JA, Hernández M, Bollati A, Bogóñez E, Satrústegui J, Effects of chronic nimodipine on working memory of old rats in relation to defects in synaptosomal calcium homeostasis. *Eur J Pharmacol* 350 (1998) 141-150.
- [9] Hashioka S, Klegeris A, McGeer P, Inhibition of human astrocyte and microglia neurotoxicity by calcium channel blockers. *Neuropharmacology* 63 (2012) 685-691.
- [10] Zhou J, Liang J, Li C, Inhibition of methamphetamine-induced apoptosis by the calcium channel blocker verapamil in rat cerebellar neurons. *Health Sci* 36 (2004) 361-365.
- [11] Thorn D, Winter J, Li J, Agmatine attenuates methamphetamine-induced conditioned place preference in rats. *Eur J Pharmacol* 680 (2012) 69-72.
- [12] Murnane K, Perrine SA, Finton BJ, Galloway MP, Howell LL, Fantegrossi WE, Effects of exposure to amphetamine derivatives on passive avoidance performance and the central levels of monoamines and their metabolites in mice: Correlations between behavior and neurochemistry. *Psychiatry* 220 (2012) 495-508.
- [13] North A, Swant J, Salvatore MF, Gamble-George J, Prins P, Butler B, Mittal MK, Heltsley R, Clark JT, Khoshbouei H, Chronic methamphetamine exposure produces a delayed long-lasting memory deficit. *Synapse* 65 (2013) 1-24.
- [14] Cubells J, Rayport S, Rajendran G, Sulzer D, Methamphetamine neurotoxicity involves vacuolation of endocytic organelles and dopamine-dependent intracellular oxidative stress. *J Neurosci* 14 (1994) 2260-2271.
- [15] Kuhn D, Francescutti-Verbeem D, Thomas D, Dopamine quinones activate microglia and induce a neurotoxic gene expression profile: relationship to methamphetamine-induced nerve ending damage. *Ann N Y Acad Sci* 1074 (2006) 31-41.
- [16] Andres M, Cooke IM, Bellinger FP, Berry MJ, Zaportea MM, Rueli RH, Barayuga SM, Chang L, Methamphetamine acutely inhibits voltage-gated calcium channels but chronically up-regulates L-type channels. *J Neurochem* 135 (2015) 56-65.
- [17] Lashgari R, Motamedi F, Zahedi-Asl S, Komaki A, Behavioral and electrophysiological studies of chronic oral administration of L-type calcium channel blocker verapamil on learning and memory in rat. *Behav Brain Res* 171 (2006) 324-328.
- [18] Masoudian N, Masoudian N, Rashidy Pour A, Vafaiee AA, Andalib S, Vaseghi G, Evaluation effects of verapamil as a calcium channel blocker on acquisition, consolidation and retrieval of memory in mice. *JCHR* 5 (2014) 99-104.
- [19] Popovic M, Caballero-Bleda M, Popović N, Puelles L, van Groen T, Witter MP, Verapamil prevents in a dose-dependent way the loss of ChAT-immunoreactive neurons in the cerebral cortex following lesions of the rat nucleus basalis magnocellularis. *Exp Brain Res* 170 (2006) 368-375.
- [20] Liu Y, Lo YC, Qian L, Crews FT, Wilson B, Chen HL, Wu HM, Chen SH, Wei K, Lu RB, Ali S, Hong JS, Verapamil protects dopaminergic neuron damage through a novel anti-inflammatory mechanism by inhibition of microglial activation. *Neuropharmacology* 60 (2011) 373-380.

Research paper

Protective effect of verapamil on learning and memory deficits induced by methamphetamine in rat

Maryam Noorbakhshnia*, Neda Nazarizadeh Dehkordi, Siamak Beheshti

Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

Received: 6 November 2016

Accepted: 12 December 2016

Abstract

Introduction: Methamphetamine is a strong central nervous system stimulant that mimics the action of certain neurotransmitters. Methamphetamine causes the release of dopamine, serotonin and it increases glutamate levels in the brain. Methamphetamine abuse causes cognitive abnormalities and neurodegenerative changes in the brain. Verapamil hydrochloride is a calcium channel blocker that binds with high affinity to α -subunit of the L-type calcium channel complex and blocks it. Since, calcium is a major neurotoxic mediator of methamphetamine, calcium channel inhibition and consequent reduction in calcium entry may reduce the detrimental effects of methamphetamine on learning and memory.

Methods: In this study, male Wistar rats (220-240 g) were used. Chronic methamphetamine (2 mg/kg) was injected intraperitoneally for 5 consecutive days. The 5th day was the training day and retention test was done 24h after training. Verapamil hydrochloride (2.5, 5, 10 mg/kg) was intraperitoneally administered one hour before the retrieval test. Finally, the effect of verapamil on passive avoidance learning (PAL) and memory impairment induced by chronic methamphetamine was assessed.

Results: Metformin at concentration of 20 μ M increased survival of HUVECs exposed to H₂O₂. ROS and MDA levels increased in H₂O₂-treated endothelial cells. Metformin could significantly decrease H₂O₂-induced ROS and MDA elevation. It also increased total thiol groups and TAP.

Conclusion: It seems verapamil can be introduced as a neuroprotective substance in memory deficit induced by methamphetamine.

Keywords: Methamphetamine, Verapamil, Passive avoidance learning, Rat

Please cite this article as follows:

Noorbakhshnia M, Nazarizadeh Dehkordi N, Beheshti S, Sarvestani MH, T Protective effect of verapamil on learning and memory deficits induced by methamphetamine in rat. *Iran J Physiol Pharmacol* 1 (2018) 51-58.

*Corresponding author e-mail: m.noorbakhshnia@sci.ui.ac.ir

Available online at: <http://ijpp.phypha.ir>

E-mail: ijpp@phypha.ir