IranJPP
Iranian Journal of
Physiology and Pharmacology

مجله فیزیولوژی و فارماکولوژی ایران

۲ (۱)، ۵۸- ۵۱ بهار ۱۳۹۷

مقاله پژوهشی

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

مریم نوربخش نیا*، ندا نظری‌زاده دهکردی، سیامک بهشتی

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان

دریافت: ۱۶ آبان ۹۵ پذیرش: ۲۲ آذر ۹۵

چکیده

مقدمه: مت آمفتامین یک محرک قدرتمند سیستم عصبی مرکزی است که عملکرد نوروترنسمیترهای خاصی در مغز را تقلید می‌کند. مت آمفتامین باعث آزادسازی دوپامین، سروتونین و افزایش سطح گلوتامات در مغز می‌شود. سوءمصرف مت‌آمفتامین می‌تواند باعث اختلال در عملکردهای شناختی و آسیب به سیستم عصبی گردد. وراپامیل مهارکننده کانال‌های کلسیمی حساس به ولتاژ نوع L است که تمایل بالایی جهت اتصال به زیرواحد α کانال کلسیمی دارد. از آن جا که کلسیم یک میانجی اصلی سمیت عصبی ناشی از مصرف مت آمفتامین است مهار کانال‌های کلسیمی و متعاقباً کاهش ورود کلسیم احتمالا می‌تواند از اثرات تخریبی مت آمفتامین بریادگیری و حافظه جلوگیری نماید.

روش‌ها: در این تحقیق از موشهای صحرایی نر در محدوده وزنی ۲۲۰ تا ۲۴۰ گرم استفاده شد. تزریق مزمن مت آمفتامین با غلظت mg/kg ۲ 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 باغلظتهای (۲/۵، ۵، ۱۰ mg/kg) به صورت حاد یک ساعت قبل از مرحله به خاطرآوری به روش داخل صفاقی تزریق گردید و در نهایت اثر وراپامیل بر تخریب حافظه القاء شده توسط تزریق مزمن مت آمفتامین بررسی گردید.

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

نتیجه‌گیری: 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

مت آمفتامین یا نام کامل تر آن متیل آمفتامین یک ماده‌ی محرک بسیار اعتیادآور است که سیستم اعصاب مرکزی را به شدت متأثر می‌سازد. مت آمفتامین که با نام‌های کریستال، یخ و شیشه نیز شناخته می‌شود به صورت پودری سفید و شفاف است که بو ندارد، مزه‌ی آن تلخ است و به سادگی در آب، الکل، فرمالین و متیل سولفوکسید حل می‌گردد [۱]. مت آمفتامین به علت سهولت سنتز از پیش سازهای در دسترس، رتبه دوم جهانی سوءمصرف مواد را بعد از کانابیس ها به خود اختصاص داده است [۲]. مت‌آمفتامین یک ماده مقلد سمپاتیک است و با تقلید دو دسته از نوروترانسمیترها یعنی کاتکول آمینها (شامل دوپامین و نور اپی نفرین) و ایندول آمین ها مثل سروتونین، بر روی دستگاه عصبی مرکزی اثر می‌گذارد. البته مت‌آمفتامین بیشترین اثر خود را با تقلید کردن از دوپامین می‌گذارد. همچنین مت آمفتامین آنزیم مونوآمین اکسیداز که مسئول تجزیه

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

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-22]

نوروترنسمیترهای ترشح شده است را مهار می‌کند و در نتیجه میزان بیشتری نوروترانسمیتر مونوآمینی 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 اینترلوکین ها مثل IL-1β, 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 فرآیند نورودژنراسیون را پیش ببرد [۴].

وراپامیل هیدروکلراید داروی مهارکننده کانال‌های کلسیمی حساس به ولتاژ نوع L است که در سال۱۹۸۲ 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. مهارکننده های کانال کلسیمی گروه متنوعی از داروها هستند که بر اساس ساختار شیمیایی، فارماکوکینتیک و کاربردهای درمانی در سه گروه دی هیدروپیریدین، بنزودیازپین و فنیل آلکیل آمین طبقه‌بندی می‌شوند. وراپامیل در گروه فنیل 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 LTP (Long term potentiation) است که یک شکل از انعطاف پذیری سیناپسی و یکی از مکانیسم های 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 مسدودکننده های 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 نورون ها دراین منطقه همراه است. آزمایشات بالینی با وراپامیل که به راحتی از سد خونی– مغزی عبور می کند 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 کانال های کلسیمی نوع L می‌تواند این نقص حافظه را بهبود بخشد [۸]، همچنین در روند پیری تولید فاکتورهای التهابی همچون سایتوکاین ها، فاکتور TNFα و NO افزایش می‌یابد که با افزایش فعالیت کانال‌های کلسیمی نوع L همراه است. وراپامیل آنتاگونیست کانا ل های کلسیمی نوع L به طور مستقیم با اثر بر میکروگلیا ها و آستروسیت ها 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 نوروتوکسیسیتی در نورونها می شود، در واقع کلسیم یک واسطه گر اصلی نوروتوکسیسیتی 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 مت‌آمفتامین در موش صحرایی پرداخته شد.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-22]

مواد و روش‌ها

به منظور انجام این تحقیق از موش های صحرایی نر نژاد ویستاردر محدوده وزنی۲۲۰ تا۲۴۰ گرم استفاده شد. حیوانات در قفس های استاندارد نگهداری شده و دسترسی آسان به آب و غذای کافی داشتند. حیوانات در حیوانخانه گروه زیست شناسی دانشگاه اصفهان تحت شرایط تهویه مناسب و با دوره روشنایی/ تاریکی ۱۲ ساعته و در دمای ۲ ± ۲۲ درجه سانتی گراد پرورش داده شدند. جنبه های اخلاقی کار با حیوانات به وسیله کمیته تحصیلات تکمیلی گروه زیست شناسی دانشگاه اصفهان مورد تایید قرار گرفت.

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

گروه های دریافت کننده توام مت آمفتامین- وراپامیل به مدت ۵ روز مت آمفتامین دریافت کردند که آخرین دریافت مت آمفتامین 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 می کشد 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 می گردید. قبل از اجرای مرحله دوم موش‌های صحرایی به مدت ۳۰ دقیقه در قفس خود قرار می گرفتند و پس از این زمان مرحله دوم تست انجام می شد. در این مرحله مجددا حیوان پشت به درب گیوتینی در اتاقک روشن قرار داده می شد و پس از ۵ ثانیه درب برداشته می گردید و به محض ورود حیوان به اتاقک تاریک و بستن درب گیوتینی، از طریق میله‌های کف اتاقک تاریک شوک الکتریکی با جریان ۱/۱ میلی آمپر، فرکانس ۵۰ هرتز و به مدت ۱/۵ ثانیه اعمال می شد. پس از دریافت شوک حیوان به مدت ۳۰ ثانیه در اتاقک تاریک باقی می‌ماند و سپس خارج شده و به قفس انتقال داده می شد. پس از ۲ دقیقه حیوان مجددا درون دستگاه قرار داده می شد و بعد از ۵ ثانیه درب گیوتینی باز می شد و تمایل حیوان جهت ورود به ناحیه تاریک ثبت می گردید، این زمان تا حداکثر ۱۲۰ ثانیه تاخیر ادامه داشت و درصورت ورود به ناحیه تاریک دریافت مجدد شوک صورت می گرفت این مرحله ادامه می یافت تا حیوان یاد بگیرد در محدود۱۲۰ ثانیه ای که ثبت می شد وارد ناحیه تاریک نگردد. بعد از گذشت ۲۴ساعت و در روز دوم (مرحله Testing trail) یا روز به خاطر آوری، حیوان پشت به درب گیوتینی در ناحیه روشن قرار داده می شد 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 می گردید.

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 ± انحراف معیار (Mean ± SEM) برای هر گروه در نظر گرفته شد. در تمام موارد $p < ۰/۰۵$ 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 می باشد. در گروه دریافت کننده وراپامیل مدت

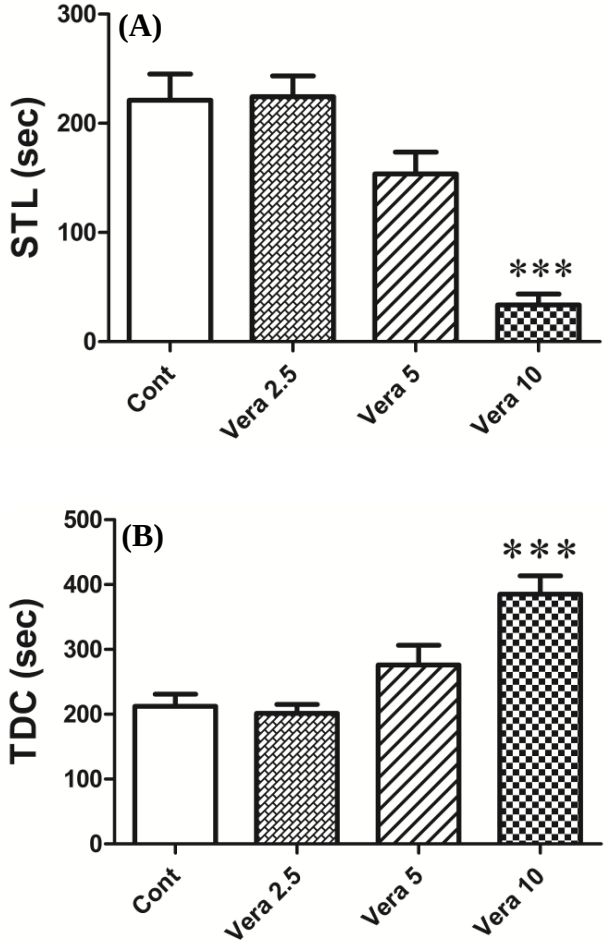
[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-22]

زمان تاخیر در ورود به اتاقک تاریک در روز اول (قبل از دریافت شوک الکتریکی) در همه گروه ها تقریبا یکسان بود و با هم اختلاف معناداری نشان نداد (داده ها نشان داده نشده است) که این امر نشان می دهد قبل از دریافت شوک تمایل حیوانات برای ورود به ناحیه تاریک در گروههای مختلف اختلاف معناداری ندارد ولی در روز دوم در گروه دریافت کننده وراپامیل با دوز ۱۰ mg/kg، تمایل حیوان برای ورود به اتاقک تاریک به صورت معناداری نسبت به گروه کنترل افزایش یافت [$p <$ ۰/۰۰۱، F (۳، ۲۸) = ۲۱/۳۹] اما در گروه دریافت کننده 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 گروه های دریافت کننده وراپامیل با دوز ۱۰ mg/kg به شکل معناداری نسبت به گروه کنترل افزایش پیدا کرده بود [$p <$ ۰/۰۰۱، F (۳، ۲۸) = ۱۲/۶۱] اما در گروه دریافت دریافت کننده 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 [$p <$ ۰/۰۰۱، F (۳، ۲۸) = ۳۹/۷۵]. درگروه دریافت کننده مت‌آمفتامین 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 ($p <$ ۰/۰۰۱)، اما در گروه دریافت کننده هر دو ماده مت آمفتامین و وراپامیل این زمان به صورت معناداری نسبت به گروه مت آمفتامین افزایش نشان داد ($p <$ ۰/۰۱، نمودار ۲A). همچنین نتایج مربوط به مدت زمان ماندن در اتاقک تاریک نیز بیانگر وجود اختلاف معنادار بین گروه‌ها بود [$p <$ ۰/۰۰۱، F (۳، ۲۸) = ۱۵/۶۹] (نمودار ۲B) . بر اساس نتایج مت آمفتامین باعث افزایش معنادار مدت زمان ماندن در تاریکی نسبت به گروه کنترل گردید ($p <$ ۰/۰۰۱). 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 ($p <$ ۰/۰۱). چنین به نظر می رسد که اگرچه دوز بالاتر وراپامیل به تنهایی باعث تخریب حافظه و یادگیری احترازی غیر فعال می شود اما در شرایطی استفاده از مت آمفتامین باعث کاهش معنادار اثر تخریبی مت آمفتامین بر حافظه و یادگیری احترازی غیر فعال می گردد.

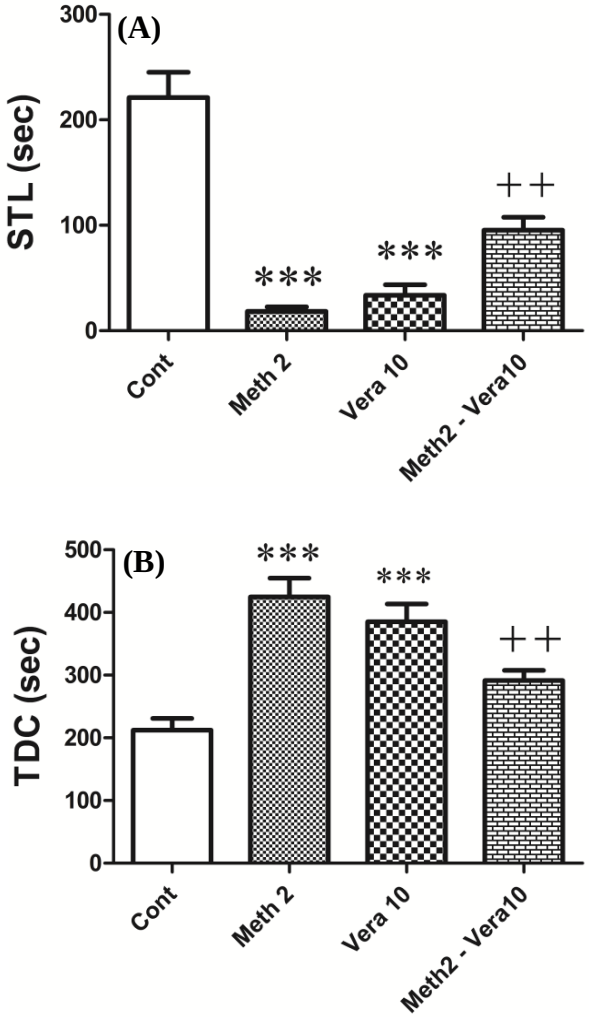
بحث

هدف از این مطالعه بررسی اثر وراپامیل بر اختلال حافظه و یادگیری احترازی غیر فعال ایجاد شده توسط مت‌آمفتامین در موش صحرایی بود. روش یادگیری احترازی غیر فعال یکی از روش های ارزیابی حافظه است، در این مدل حیوان یاد می گیرد برای دوری از حوادث مضر(شوک الکتریکی) تمایل ذاتی خود را در رفتن به اتاقک تاریک سرکوب نماید و می توان 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 ± انحراف معیار نشان داده شده است. ***: $p <$ ۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل، n = ۸.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-22]



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. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده است. ***: $p < ۰/۰۰۱$ در مقایسه با گروه کنترل و ++: $p < ۰/۰۱$ در مقایسه با گروه مت آمفتامین، n=۸.

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 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 تائید 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 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 ۱۴و 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 می‌تواند عواقب ویرانگری برای سلول به همراه داشته باشد و منجر به مرگ سلولی گردد [۱۶].

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-22]

در این مطالعه نشان داده شد که تزریق حاد وراپامیل با دوز ۱۰ 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 ۲ mg/kg، وراپامیل با دوز ۱۰ mg/kg دریافت کرده اند نسبت به گروه دریافت کننده مت آمفتامین با دوز ۲ mg/kg، STL افزایش یافته و TDC کاهش پیدا کرده است. اثرمحافظت نورونی وراپامیل در چندین مدل آسیب نشان داده شده است که از آن جمله می‌توان به کاهش جراحت‌های حاد کبدی، مهار تولید سوپراکسیدها در نوترفیل ها و ماکروفاژها، جلوگیری از آپوپتوز ناشی از آمفتامین در نورون های مخچه موش، مهار مرگ سلول‌های عصبی استیل کولین ترانسفراز در قشر مغز ناشی از ضایعات هسته‌های قاعده‌ای و محافظت از مرگ نورون های قشری مغز ناشی از آمیلوئید β در بیماری آلزایمر اشاره نمود [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 ودر 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 نیکوتین‌آمید آدنین دی‌نوکلئوتید (NADPH) اکسیداز و در نتیجه کاهش تولید سوپراکسیدها، نیتریک اکساید و سایتوکاین هایی همچون TNFα را بر شمرد [۲۰].

نتیجه‌گیری

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 نظری‌زاده 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.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-22]

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, Bogónez E, Satrústegui J, Effects of chronic nimodipineon 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, Zaporteza 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] [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.

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-22]

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 5^{th} 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 μM increased survival of HUVECs exposed to H_2O_2. ROS and MDA levels increased in H_2O_2-treated endothelial cells. Metformin could significantly decrease H_2O_2-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

[Downloaded from ijpp.phypha.ir on 2025-05-22]