



دانشگاه علوم پزشکی

و خدمات بهداشتی درمانی کرمان

دانشکده پزشکی

پایان نامه مقطع دکتری تخصصی (Ph.D) فیزیولوژی

عنوان:

تعیین نقش گیرنده های CB1 کانابینوئیدی بر روی تغییرات رفتاری،

الکتروفیزیولوژیک و مولکولی نورونهای پورکینز ناحیه ورمیس مخچه به دنبال تجویز

مکرر مت آمفتامین در موش های صحرایی نر

توسط: عفت رامشینی

اساتید راهنما: دکتر محمد شعبانی دکتر غلامرضا سپهری

اساتید مشاور: دکتر محمد خاکساری دکتر میثم احمدی

سال تحصیلی (مهر ۱۳۹۸)

شماره پایان نامه: (۵۵۵)



بسمه تعالی

صورتجلسه دفاع از پایان نامه

دانشگاه علوم پزشکی کرمان

سیرت تحصیلات تکمیلی دانشگاه

تاریخ: ۹۸/۷/۶

شماره: ۹۸۳۰۵۵۵

کد احلاق: ۷۳۳-۱۳۹۵

جلسه دفاعیه پایان نامه تحصیلی خاتم عفت رامشینی دانشجوی دکتری تخصصی (Ph.D) رشته فیزیولوژی پزشکی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان تحت عنوان "بررسی نقش گیرنده های CB1 کناپتوئیدی بر روی تغییرات رفتاری، الکتروفیزیولوژیک و مولکولی نورونهای پرکیتز ناحیه ورمیس منجه به دنبال تجویز مکرر مت آمفتامین در موش های صحرایی نر" در ساعت 10 صبح روز شنبه مورخ 98/7/6 با حضور اعضای محترم هیات داوران به شرح ذیل:

امضا	نام و نام خانوادگی	سمت
	1- جناب آقای دکتر محمد شعبانی 2- جناب آقای دکتر غلامرضا سپهری	فدائستادان راهنما
	1- جناب آقای دکتر محمد عاکساری 2- جناب آقای دکتر مینم احمدی زیدآبادی	بیا استادان مشاور
	جناب آقای دکتر ناصر شاهرخی	ج: عضو هیات داوران (داخلی)
	جناب آقای دکتر وحید شیبانی	ج: عضو هیات داوران (داخلی)
	جناب آقای دکتر علی شمس زاده	د: عضو هیات داوران (خارجی)
	سرکار خانم دکتر ناز بوی گلکاری پور	د: عضو هیات داوران (خارجی)
	سرکار خانم دکتر معصومه نوزدی	ه: نماینده تحصیلات تکمیلی

تشکیل گردید و ضمن ارزیابی به شرح بیوست با درجه عالی و نمره ۱۹/۹۸ مورد تأیید قرار گرفت.



## چکیده

**مقدمه و اهداف:** مت آمفتامین یکی از شایع ترین مواد سوء مصرف در جامعه کنونی می باشد. سوء مصرف مت آمفتامین یک نگرانی جهانی است زیرا استفاده مزمن آن با اختلالات عصبی و روانی همراه است. این اختلالات می تواند ناشی از سمیت عصبی ناشی از مصرف مت آمفتامین باشد. مطالعات متعددی نشان داده اند که سیستم اندوکانابینوئیدی (ECBs) دارای اثرات محافظت کننده نورونی در مغز است. این مطالعات همچنین نشان داده اند که اثرات محافظت نورونی سیستم اندوکانابینوئیدی می تواند از طریق CB1Rs انجام شود. مطالعات انسانی با استفاده از تکنیک های تصویربرداری مغز نشان داده اند که مخچه منطقه بالقوه ای برای سمیت عصبی ناشی از سوء مصرف مواد است. این مطالعات همچنین تغییرات ساختاری در مخچه معتادان را نشان داده اند. با این وجود، مطالعات معدودی تغییرات ناشی از METH در این منطقه را مورد ارزیابی قرار داده اند. اگر چه مکانیسم های عصبی پایه ناشی از مصرف مت آمفتامین مورد بررسی قرار گرفته است، اما مکانیسم های سلولی و مولکولی و الکتروفیزیولوژیکی ناشی از مت آمفتامین هنوز کاملاً آشکار نشده است. بنابراین تصمیم گرفتیم تقابل اثر میان METH و CB1Rs را با استفاده از مطالعات رفتاری، الکتروفیزیولوژیکی و مولکولی مورد ارزیابی قرار دهیم.

**روش ها:** در مطالعه حاضر به منظور ارزیابی حافظه پاداشی و حافظه احترازی از آزمون های CPP و Passive Avoidance استفاده شد. رفتارهای شبه اضطرابی با استفاده از آزمون EPM مورد بررسی قرار گرفت. آزمون Open field برای بررسی فعالیت حرکتی و رفتارهای کلیشه ای استفاده شد. برای ارزیابی قدرت عضلانی و تعادل از آزمونهای Rota-rod و Wire grip استفاده شد. میزان فعالیت الکتروفیزیولوژیکی و بیان پروتئین BDNF با استفاده از تکنیکهای Patch clamp و وسترن بلات ارزیابی شد. مت آمفتامین (۵ mg/kg, i.p.) به تنهایی یا در ترکیب با (WIN 3 mg/kg, i.p.) یا SR 10 (۳۰ mg/kg, i.p) ۳۰ دقیقه قبل از مصرف مت آمفتامین یک بار در روز به مدت سه روز، تجویز شد.

**یافته‌ها:** در آزمون CPP، METH به تنهایی یا در ترکیب با SR، به طور معنی داری CPP - METH را افزایش داد. در آزمون حافظه احترازی غیر فعال، مواجهه مکرر با METH بازیابی حافظه احترازی را کاهش داد و تیمار با SR، اختلال حافظه ناشی از METH را بهبود بخشید. همچنین تجویز METH به تنهایی و یا در ترکیب با WIN باعث افزایش رفتارهای اضطرابی در آزمون ماز بعلاوه شد. در آزمون میدان باز فعالیت های حرکتی در حیواناتی که METH در یافت کرده بودند، به طور معنی داری افزایش یافت. هماهنگی حرکتی و تعادل و همچنین قدرت عصبی-عضلانی در حیواناتی که METH در یافت کرده بودند، به طور معنی داری کاهش یافت. میزان بیان پروتئین BDNF در ناحیه ورمیس مخچه در ۷ گروه مورد مطالعه تغییر معنی داری نداشت. در مطالعات الکتروفیزیولوژیک، METH باعث تغییراتی در پارامترهای الکتروفیزیولوژیکی شد و استفاده از کانابینوئیدها توانست این تغییرات را تا حدودی به سطح اولیه برگرداند.

**نتیجه‌گیری:** یافته های ما بینش بیشتری در مورد نقش سیستم اندوکانابینوئیدی در تغییرات عصبی ناشی از مت آمفتامین فراهم می کند که می تواند در توسعه مداخلات درمانی برای وابستگی به مت آمفتامین مورد توجه قرار گیرد.

**واژه های کلیدی:** مت آمفتامین، اندوکانابینوئیدها، مخچه، فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز، آگونیست گیرنده های کانابینوئیدی، آنتاگونیست گیرنده کانابینوئیدی

## **Abstract**

**Background and objectives :** Methamphetamine (METH) is one of the most common illegal drugs in today's society. METH abuse is a global concern because its chronic abuse is associated with neurologic and psychiatric disorders. These disorders could result from methamphetamine-induced neurotoxicity. Several studies have been reported that the endocannabinoid system (ECBs) has neuroprotective effects in the brain. These studies have also suggested that the neuroprotective effects of ECBs can be mediated through the cannabinoid CB1 receptors (CB1Rs). Even though interactions between CB1Rs and METH have been shown, role of these receptors in METH-neurotoxicity have not been fully identified. Current study designed to investigate the neuroprotective effects of the ECBs and the involvement of CB1Rs in these effects. Human neuroimaging studies have shown that the cerebellum is a potential region for the drugs abuse-neurotoxicity. These studies have also shown structural alterations in the cerebellum of drug abusers. Nevertheless, few studies have assayed the alterations induced by METH in this region. Thus, we conducted behavioral, electrophysiological, and molecular studies to evaluate functional interactions between METH and the cannabinoid CB1 receptors.

**Methods :** In this study, we conducted a conditioned place preference (CPP) paradigm to assess the effect of CB1Rs agonist (WIN)/antagonist (SR) in the disruption of memories associated with METH. Memory retrieval and anxiety parameters were examined using passive avoidance and elevated plus maze (EPM) procedures. Locomotor activity, motor coordination, and muscle strength investigated using open field, rota-rod, and wire grip tasks. The effect of CB1Rs on METH-induced electrophysiological changes in cerebellum purkinje neurons were investigated by whole-cell patch

clamp recordings. The level of BDNF protein expression was determined through western blot analysis. METH (5 mg/kg/day), SR (10 mg/kg/day) and WIN (3 mg/kg/day) were given intraperitoneally for 3 days.

**Results:** Our results in CPP showed that the METH induces a significant rewarding effect and WIN decreased this effect. The METH-treated rats exhibited a significant increase in anxiety behaviors in the EPM test. The results obtained in passive avoidance indicated that METH impaired memory retrieval and pretreatment with SR restored METH-memory deficit. The open field test showed that motor activity and anxiety-related behaviors increased in the METH-treated rats and SR attenuated anxiety-related behaviors induced by METH. Our findings in the wire grip and rota-rod protocols reported reduction of motor coordination and muscle strength METH-treated rats and neither WIN nor SR had any effect on impairments induced by METH. Electrophysiological study revealed that METH increased the action potential width at half-width, ISIs, first spike latency (FSL), and decreased the rebound action potential and spontaneous firing frequency. METH combined with WIN/SR restored some of these alterations. BDNF protein expression, as determined by [western blot analysis](#), demonstrated that there were no changes in the [cerebellum](#) BDNF level.

**Conclusion:** In summary, our findings provide further insights into the modulatory role of the ECBs system in METH-induced neurologic changes, which can be used in the development of therapeutic interventions for METH dependence.

**Key words:** Methamphetamine, Endocannabinoids, Cerebellum, [Brain-derived neurotrophic factor](#), Cannabinoid receptor agonists, Cannabinoid receptor antagonists



**Kerman University of Medical Sciences**

**Faculty of Medicine**

In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree (PhD)

Title

**Investigation the role of CB1 cannabinoid receptors on behavioral,  
electrophysiological and molecular alterations of purkinje neurons in vermis area  
of cerebellum following repeated methamphetamine administration in male rats**

By

**Effat Ramshini**

Supervisors

1- Dr. M Shabari | 2- Dr. GH Sepehri

Advisors

1- Dr. M Khaksari | 2- Dr. M Ahmadi

Tesis NO : (555)

Date (September, 2019)