ORIGINAL ARTICLE

Involvement of Median Septum Region in Ghrelin Effects on Morphine-Induced Memory Impairment in Passive Avoidance Learning

Mohammad Shafieifar[1],
Niloufar Darbandi[2],
Farzaneh Nazari-Serenjeh[3]

[1] MSc in Animal Physiology, Faculty of Science, Arak University, Arak, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Arak University, Arak, Iran
[3] Assistant Professor, Department of Biology, Payame Noor University, Tehran, Iran

(Received August 6, 2019 ; Accepted October 8, 2019)

Abstract

Background and purpose: Many studies have reported the effect of morphine on memory impairment. Evidence suggests that ghrelin enhances memory consolidation. The median septum also has a major role in memory and learning mechanisms. The present study aimed at investigating the role of median septum on the effects of ghrelin in morphine-induced amnesia.

Materials and methods: In this experimental research, male Wistar rats were randomly divided into 12 groups: ghrelin groups (0, 0.3, 1.5, 3 nmol/µl) plus saline (1 ml/kg) or morphine (7.5 mg/kg) and groups treated with lidocaine (1 µl/rat) or saline (1 µl/rat) plus ghrelin (3 nmol/µl) or saline (1 µl/rat) plus morphine (7.5 mg/kg). Cannulation was done in the lateral ventricle and median septum. Ghrelin and lidocaine were injected into the lateral ventricle and septum, respectively and morphine was injected subcutaneously. Memory was assessed by avoidant learning.

Results: Post-training intra-ventricle administration of ghrelin 5 min prior to morphine (7.5 mg/kg) prevented morphine amnesia (P= 0.000). Injection of lidocaine into the median septum 5 min before the injection of ghrelin prevented its effect on inhibition of morphine amnesia (P= 0.000).

Conclusion: Injection of ghrelin into the lateral ventricle was found to be capable of preventing morphine-induced memory impairment. Inactivation of the median septum by injection of lidocaine reduced the effect of ghrelin on morphine-induced memory deficits. Therefore, the median septal region appears to mediate the effects of ghrelin on morphine-induced amnesia.

Keywords: ghrelin, lateral ventricle, median septum, morphine, passive avoidance learning

J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 29 (179): 28-39 (Persian).

* **Corresponding Author: Farzaneh Nazari-Serenjeh-** Department of Biology, Payame Noor University (PNU), Tehran, Iran (E-mail: nazari_farzaneh@yahoo.com)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-12]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و نهم شماره 179 آذر سال 1398 (39-28)

دخالت ناحیه سپتوم میانی در اثرات گرلین بر اختلال حافظه ناشی از مورفین در مدل یادگیری اجتنابی غیر فعال

محمد شفیعی فر[1]
نیلوفر دربندی[2]
فرزانه نظری سرنجه[3]

چکیده

سابقه و هدف: در مطالعات زیادی تخریب حافظه ناشی از تزریق مورفین گزارش شده است. همچنین شواهد نشان می‌دهد که هورمون گرلین تثبیت حافظه را افزایش می‌دهد. از طرف دیگر ناحیه سپتوم میانی نقش مهمی در مکانیسم حافظه و یادگیری دارد. در مطالعه حاضر نقش ناحیه سپتوم میانی در اثرات گرلین بر فراموشی ناشی از مورفین بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی رت‌های نر بالغ از نژاد ویستار بطور تصادفی به 12 گروه تقسیم شدند: گروه‌های گرلین (3nmol/µl، 1/5، 0/5) به‌همراه سالین (1ml/kg) یا مورفین(7/5 mg/kg) و گروه‌های تیمار شده با لیدوکائین (1 µl/rat) یا سالین (1 µl/rat) به همراه گرلین (3 nmol/µl) یا سالین (1 µl/rat) به علاوه مورفین (7/5 mg/kg). کانول‌گذاری در نواحی بطن جانبی و سپتوم میانی انجام شد. گرلین و لیدوکائین به‌ترتیب در بطن جانبی و سپتوم و مورفین به‌صورت زیرجلدی تزریق شد. حافظه به کمک یادگیری اجتنابی ارزیابی شد.

یافته‌ها: تزریق بعد از آموزش گرلین به درون بطن جانبی 5 دقیقه قبل از تزریق مورفین (7/5 mg/kg) به صورت وابسته به دوز، از ایجاد فراموشی ناشی از مورفین جلوگیری کرد (P=0/000). تزریق لیدوکائین به درون ناحیه سپتوم میانی 5 دقیقه قبل از تزریق گرلین مانع از اثر آن در مهار فراموشی ناشی از مورفین شد (P =0/000).

استنتاج: این مطالعه نشان می‌دهد تزریق گرلین به بطن جانبی قادر است از تخریب حافظه ناشی از مورفین جلوگیری کند. غیرفعال سازی سپتوم میانی توسط تزریق لیدوکائین اثر گرلین بر نقص حافظه ناشی از مورفین را کاهش داد. لذا به نظر می‌رسد ناحیه سپتوم میانی در میانجیگری اثرات گرلین بر فراموشی ناشی از مورفین دخالت دارد.

واژه های کلیدی: گرلین، بطن جانبی، سپتوم میانی، مورفین، یادگیری اجتنابی غیر فعال

مقدمه

مطالعات نشان می‌دهد که برخی از هورمون‌های گوارشی مانند گرلین به دلیل وجود ترانسپورتر، از سد خونی- مغزی عبور کرده و عملکرد مغز را تحت تاثیر قرار می‌دهند(1).هورمون گرلین یک پپتید گوارشی است که اولین بار پس از شناسایی و استخراج از سلول‌های معده در سال 1999 به عنوان محرک ترشح هورمون رشد معرفی شد. گیرنده گرلین (GHS-R) از خانواده گیرنده‌های مزدوج با G- پروتئین است و در نواحی

مولف مسئول: فرزانه نظری سرنجه - تهران: دانشگاه پیام نور E-mail: nazari_farzaneh@yahoo.com
1. دانشجوی کارشناسی ارشد زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک، اراک، ایران
2. استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک، اراک، ایران
3. استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران
تاریخ دریافت : 1398/5/5 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :1398/5/13 تاریخ تصویب : 1398/7/16

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-12]

مختلف سیستم عصبی بیان می‌شود(2). گرلین در اعمال عالی مغز مانند پاداش، یادگیری و حافظه، تنظیم خواب و ترشح هورمون ها نقش دارد(3). مطالعات نشان می‌دهد که گرلین با سیستم اوپیوئیدی مغز برهمکنش داشته و در بروز اثرات رفتاری اوپیات‌ها مانند مورفین نقش دارد(۵،۴). یکی از اثرات مخرب مورفین، تغییرات شناختی و کاهش یادگیری و حافظه است. مورفین ساختار و عملکرد طبیعی نواحی درگیر در مکانیسم‌های یادگیری و حافظه مانند هیپوکمپ را تغییر داده و سبب تغییرات شناختی و القاء فراموشی می‌شود(۷،۶). بر خلاف مورفین، گرلین اثرات مثبتی بر روی حافظه و یادگیری دارد(8). تزریق مقادیر مختلف گرلین به داخل ناحیه CA1 همراه با مقدار موثر مورفین (7/5mg/kg) یادآوری حافظه را به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه مورفین افزایش می‌دهد(9). گیرنده‌های گرلین در ناحیه هیپوکمپ بیان می‌شوند و مشخص شده است که تزریق گرلین به درون هیپوکمپ، تشکیل سیناپس در این ناحیه و ایجاد حافظه بلند مدت را تسریع می‌کند(10). بهشتی و همکارانش نشان دادند که تزریق آگونیست گیرنده‌های گرلین به درون سایر نواحی مرتبط با یادگیری نیز سبب افزایش تثبیت حافظه می‌شود(11). به‌علاوه، گرلین رهایی نوروترانسمیتر گلوتامات(12) و تشکیل مولکول‌های دخیل در حافظه را افزایش می‌دهد(13). همچنین گرلین دارای اثر حفاظت نورونی است و قادر است نقص حافظه و تخریب نورونی در بیماری آلزایمر القاء شده در حیوانات آزمایشگاهی را بهبود بخشد(14). در زمینه تأثیرگرلین بر روی اثرات شناختی مورفین مطالعات محدودی انجام شده است. مطالعات قبلی ما نشان می‌دهد که تزریق گرلین به درون ناحیه تگمنتوم شکمی(VTA) و یا هیپوکمپ از بروز فراموشی ناشی از مورفین جلوگیری می‌کند(۱۶،۱۵). فرآیند یادگیری و شکل‌گیری حافظه یک مکانیسم پیچیده است که در نتیجه برهم‌کنش میان قسمت‌های مختلف مغز اتفاق می‌افتد. ناحیه سپتوم میانی (median septum) یکی از ساختارهای لیمبیک است که در مکانیسم‌های یادگیری و حافظه دخالت دارد و فرآیند تشکیل حافظه در ساختارهایی مانند هیپوکمپ(۱۸،۱۷) را تنظیم می‌کند. این ناحیه همچنین در یادگیری وابسته به حالت مورفین دخالت دارد(19). مجموعه سپتوم میانی و باند مورب (MS/DB) حاوی نورون‌های کولینرژیک و گابائرژیک بوده و اخیرا نورون‌های گلوتاماترژیک نیز در این منطقه شناسایی شده‌اند(20، 21). فعال‌سازی هسته سپتوم میانی باعث افزایش فعالیت نورون‌های هرمی در همه مناطق هیپوکمپ از جمله شکنج دندانه‌ای، CA3 و CA1 می‌شود. انواع مختلفی از گیرنده‌های گلوتامات در تراکم بالا در هیپوکمپ و سپتوم وجود دارد. این گیرنده‌ها نقش مهمی در یادگیری دارند. هیپوکمپ به طور مستقیم از طریق فیمبریا- فورنیکس و به طور غیرمستقیم از طریق هسته سپتوم جانبی با سپتوم میانی ارتباط دارد. خروجی‌های هماهنگ مسیر سپتو- هیپوکمپ موجب انتقال و انعطاف پلاستیسیته سیناپسی می‌شود(22). مطالعات ایمونو هیستوشیمیایی نشان می‌دهد که گیرنده‌های گرلینی در ناحیه سپتوم حضور دارند(23)، اما تاکنون نقش این ناحیه در اثرات گرلین بر فراموشی ناشی از مورفین مورد بررسی قرار نگرفته است. لذا با توجه به نقش ناحیه سپتوم در یادگیری و حافظه، در مطالعه حاضر با استفاده از روش غیر فعال‌سازی برگشت پذیر ناحیه سپتوم میانی توسط تزریق لیدوکائین، دخالت این ناحیه از مغز در اثرات گرلین بر فراموشی ناشی از مورفین به روش یادگیری اجتنابی مهاری که یک نوع یادگیری وابسته به هیپوکمپ است، مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

حیوانات

پروتکل این مطالعه تجربی توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اراک بررسی و تأیید شد (شماره

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-12]

کـد اخـلاق IR.ARAKMU.REC. 1397/261) و در انجـام آن کلیـه دسـتورالعمل‌هـای کـار بـا حیوانـات آزمایشگاهی رعایت شـده اسـت. جهـت انجـام مطالعـه تعداد 84 سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در محـدوده وزنی 250-220 گرم (تهیه شده از انستیتو پاستور ایـران) استفاده شد. حیوانات در دمای کنترل شده حیـوان خانـه (2±22درجه سانتی‌گراد) در 12 ساعت نور و 12 سـاعت تاریکی و دسترسـی آسـان بـه آب و مـواد غـذایی قـرار داشتند. آزمایشات در بازه زمـانی 9 صـبح تـا 13 بعـد از ظهر انجـام شـد. حیوانـات بـه 12 گـروه 7 تـایی تقسـیم شدند. گروه‌های آزمایشـی شـامل: گـروه‌هـای دریافـت کننـده گـرلین+ سـالین: در ایـن گـروه‌هـا بـه حیوانـات بلافاصـلـه پـس از آمـوزش یکـی از مقـادیر گـرلین (3nmol/µl، 1/5، 0/5) (شرکت Abcam، انگلسـتان) بـه داخـل بطـن جـانبی تزریـق و پـس از 5 دقیقـه سـالین (1ml/kg) به صورت زیر جلدی تزریق شـد. گـروه‌هـای دریافـت‌کننـده گـرلین+ مـورفین: در ایـن گـروه‌هـا، به حیوانـات بلافاصـله پـس از آمـوزش یکـی از مقـادیر گرلین به داخـل بطـن جـانبی تزریـق و پـس از 5 دقیقـه مورفین (7/5 mg/kg) (تهیه شده از شرکت دارو پخـش، ایران) به صـورت زیـر جلـدی تزریـق شـد. گـروه‌هـای دریافت‌کننده لیدوکائین: در این گروه‌ها، بلافاصله پـس از آمـوزش ابتـدا لیـدوکائین (1 µl/rat) بـه درون ناحیـه سپتوم میانی تزریق گردید. سپس بـه فواصـل 5 دقیقـه‌ای گرلین (3 nmol/µl) و یا سالین (1µl/rat) به داخل بطـن جانبی و در نهایت مورفین (7/5 mg/kg) به صورت زیـر جلدی تزریق شد.

روش کانول‌گذاری

ابتـدا حیوانـات بـا تزریـق داخـل صـفاقی مخلـوط کتـامین هیدروکلرایـد (100میلـی‌گـرم برکیلـوگرم وزن بدن) و زایلزین (5 میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن) بیهوش و در دستگاه استرئوتاکسی قرار گرفتنـد. پـس از برداشـتن پوست و نسج ناحیه فوقـانی سـر دو عـدد کـانول راهنمـا (که از سر سوزن 22 گیج دندانپزشـکی تهیـه شـده بـود) یـک میلـی‌متـر بـالاتر از ناحیـه بطـن جـانبی (0/8- میلی‌متر از برگما)، 1/4- میلی‌متـر از شـکاف سـاژیتال و 2/5- میلی‌متر از سطح از جمجمه) و سپتوم میانی (1/2 + میلی‌متر از برگما، 0/1+ میلـی‌متـر از شـکاف سـاژیتال و 5/5- میلـی‌متـر از سـطح از جمجمـه) بـه وسـیله سـیمان دندانپزشـکی بـر روی جمجمـه تثبیـت شـدند. پـس از کانول‌گذاری، حیوانـات 7 روز دوره بهبـودی را سـپری کرده و سپس حافظه و یادگیری آن‌ها به روش یادگیری اجتنابی غیرفعال ارزیابی شد(15).

روش تزریق درون مغزی

برای تزریق داروها از سـرنگ هـامیلتون متصـل بـه رابط پلی‌اتیلینی و کانول تزریق استفاده شد. کانول‌هـای تزریق از سرسوزن‌های 27 گیج دندانپزشکی تهیه شـدند و طول آن‌ها یک میلی‌متر بلنـدتر از کـانول‌هـای راهنمـا بود. حجم تزریق به درون ناحیه بطن جانبی و سپتوم هـر دو 1 میکرولیتر بود کـه در مـدت زمـان 60 ثانیـه تزریـق شـد. جهـت اطمینـان از تزریـق و جـذب کامـل دارو بـه درون نـواحی مـورد نظـر و جلـوگیری از انتشـار آن بـه نواحی اطراف، کانول تزریق 60 ثانیه پس از پایان تزریق دارو از کـانول راهنمـا خـارج مـی‌شـد. پـس از انجـام آزمایش‌ها جهـت تأییـد محـل کـانول راهنمـا و تزریـق صحیح دارو، رنگ متیلن بلو به درون ناحیه بطـن جـانبی و سپتوم تزریق و پس از کشتن حیوانات و قرار دادن مغز آن‌ها در محلـول فرمـالین 10 درصـد بـه مـدت 10 روز، برش‌هایی از مغز تهیه می‌شد و محل کانول‌هـا بـا اطلـس پاکسینوس و واتسون مطابقت داده مـی‌شـدند. داده‌هـای حیواناتی که محل کانول‌ها با موقعیت مورد نظر بـر روی اطلس منطبق نبود، حذف می‌شدند(15).

دستگاه Step-through

دسـتگاه Step-through جعبـه‌ای از جـنس پلکسـی‌گـلاس (شـرکت بـرج صـنعت، ایـران) و از دو

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-12]

قسمت سیاه و سفید با ابعاد30×20×20 سانتی متر ساخته شده است و توسط یک درب گیوتینی با یکدیگر مرتبط می‌شوند. در کف قسمت سیاه رنگ میله‌های فولادی تعبیه شده که هنگام روشن شدن دستگاه یک جریان الکتریکی (50 هرتز، یک میلی‌آمپر و به مدت 3 ثانیه) در آن‌ها برقرار می‌شود.

روش یادگیری اجتنابی غیرفعال

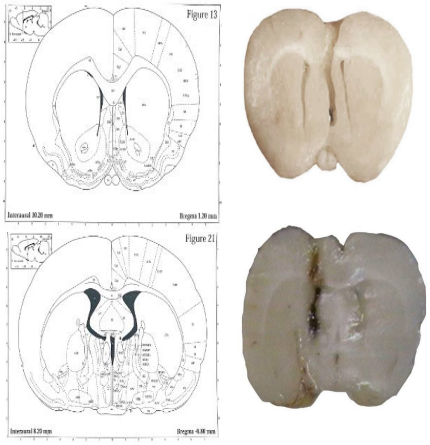
آزمون یادگیری اجتنابی غیرفعال در دو روز متوالی انجام می‌شد. در روز اول و در مرحله سازش ابتدا حیوان در قسمت سفید دستگاه قرار گرفت. پس از 5 ثانیه درب گیوتینی باز و حیوان وارد قسمت سیاه دستگاه می‌شد. حیواناتی که ورود آن‌ها به قسمت سیاه بیش‌تر از 100 ثانیه طول می‌کشید، از ادامه آزمایش حذف می‌شدند. پس از 30 دقیقه مرحله آموزش انجام می‌شد. در این مرحله حیوان در بخش سفید دستگاه قرار می‌گرفت و پس از 5 ثانیه درب گیوتینی دستگاه باز و مدت زمانی که طول می‌کشید تا حیوان وارد بخش سیاه دستگاه شود، ثبت می‌شد. به محض ورود حیوان به قسمت تاریک، درب گیوتینی بسته شده و به کف پای حیوان شوک وارد می‌شد. پس از 20 ثانیه حیوان از دستگاه خارج شده و پس از گذشت 2 دقیقه مرحله فوق تکرار می‌شد. چنانچه حیوان قبل از 120 ثانیه به قسمت تاریک وارد می‌شد، برای بار دوم شوک دریافت می‌کرد، در غیر این صورت آموزش موفق برایش ثبت و بلافاصله تزریق دارو انجام می‌گرفت. یک روز پس از مرحله آموزش، حیوانات وارد مرحله آزمون می‌شدند. در این مرحله ابتدا حیوان را در قسمت سفید دستگاه قرار داده و پس از 5 ثانیه درب گیوتینی باز می‌شد. مدت زمانی که طول می‌کشید تا حیوان وارد قسمت سیاه دستگاه شود زمان تاخیر یا STL (Step-Through Latency) نام داشت و به‌عنوان معیاری برای اندازه‌گیری میزان حافظه ثبت می‌شد. بیش‌ترین زمان تأخیر برای ورود به قسمت تاریک 300 ثانیه در نظر گرفته می‌شد(15).

آنالیز آماری

داده‌های به دست آمده با روش آنالیز واریانس (یک‌طرفه و دو طرفه) تجزیه و تحلیل شدند. همچنین برای تعیین گروه‌هایی که با هم اختلاف معنی‌دار داشتند، از آزمون Tukey استفاده شد. برای تمام محاسبات سطح معنی‌داری $P < 0/05$ در نظر گرفته شد. نتایج در تمامی نمودارها به صورت میانگین ± انحراف از میانگین گزارش و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Sigmaplot نسخه 12 رسم شد.

یافته ها

تصویر شماره 1 مکان تزریق دارو به درون نواحی بطن جانبی و سپتوم را در مقایسه با موقعیت مکانی این نواحی بر روی اطلس پاکسینوس و واتسون نشان می‌دهد. تصویر مذکور نشان می‌دهد که کانول‌گذاری و در نتیجه تزریق دارو به درون نواحی مذکور به درستی انجام شده است.



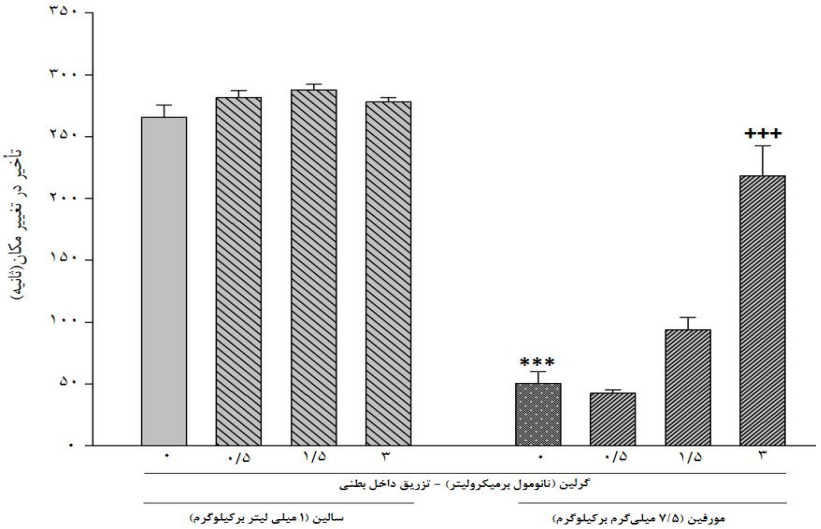
تصویر شماره 1: برش بافتی تهیه شده از نواحی بطن جانبی و سپتوم در مقایسه با موقعیت مکانی این نواحی بر روی اطلس پاکسینوس و واتسون

نتایج حاصل از مطالعات قبلی ما نشان داده بود که تزریق زیرجلدی مورفین در دوزهای (7/5 mg/kg، 5، 2/5، 0/5) پنج دقیقه بعد از آموزش به طور وابسته به دوز

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-12]

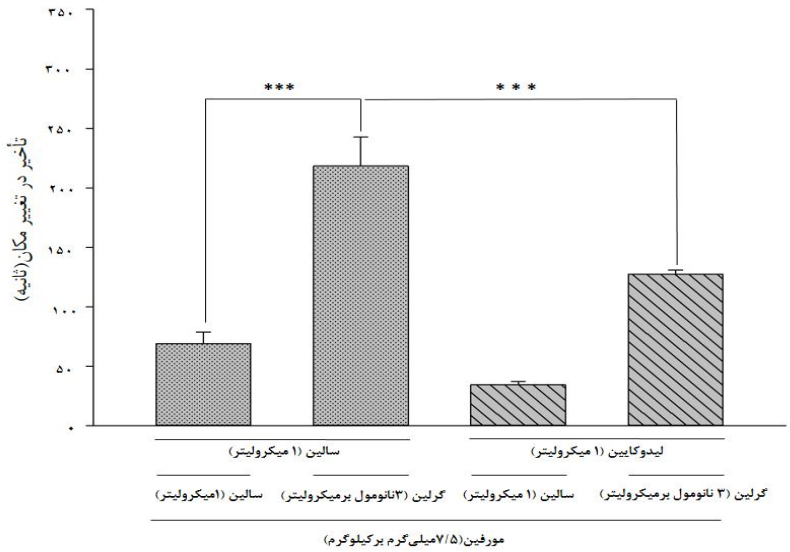
باعث کاهش زمان ورود به اتاق تاریک (STL) می‌شود(9) این نتایج نشان دهنده کاهش یادگیری در مدل اجتنابی مهاری و القای فراموشی است. بیش ترین اثر فراموشی در دوز(7/5 mg/kg) دیده شد(P =0/000). در مطالعه حاضر از دوز مورفین (7/5 mg/kg) استفاده شد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تزریق پس از آموزش مقادیر مختلف گرلین (3 ،1/5 ،0/5 nmol/µl) پنج دقیقه قبل از تزریق زیرجلدی مورفین (7/5 mg/kg) به صورت وابسته به دوز از تخریب حافظه ناشی از مورفین جلوگیری می‌کند [P=0/000، 33/073 =(24 و3)F]. آزمون مکمل توکی نشان داد در این گروه، تأخیر در ورود به اتاق تاریک به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرده که به معنی بهبود حافظه است. آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های گرلین - سالین با گروه کنترل سالین - سالین وجود ندارد [P=0/134، 2/04= (24 و3)F]. همچنین آزمون آماری آنالیز واریانس دوطرفه اختلاف معنی‌داری را بین گروه‌های گرلین - سالین و گرلین مورفین نشان داد، که بیانگر تداخل بین نوع تیمار و مقدار داروست. [P=0/000، 404/82= (56 و 1)F، نوع تیمار] ، [P=0/000، 21/17= (56 و3)F، مقدار دارو] ، [P=0/000، 20/67= (56 و3)F، تداخل تیمار × مقدار دارو] (نمودار شماره 1).

برای بررسی نقش ناحیه سپتوم میانی در اثرات گرلین بر فراموشی ناشی از مورفین، ابتدا لیدوکائین 4 درصد (1µl) به درون ناحیه سپتوم میانی تزریق و پس از پنج دقیقه گرلین (3nmol/µl) و یا سالین (1µl) به درون ناحیه بطن جانبی تزریق شد. 5 دقیقه بعد تمامی حیوانات، مورفین (7/5 mg/kg) را به صورت زیر جلدی دریافت و 24 ساعت بعد وارد مرحله آزمون حافظه شدند. آنالیز واریانس یک‌طرفه اختلاف معنی‌داری را بین گروه‌های آزمایش نشان داد [P=0/000، 36/53 = (24 و3)F]. میزان تأخیر در ورود به اتاق تاریک در گروه لیدوکائین - گرلین - مورفین به‌طور معنی‌داری کوتاه‌تر از گروه سالین - گرلین - مورفین است P=0/000، در واقع تزریق لیدوکائین در ناحیه سپتوم میانی و غیرفعال کردن این ناحیه از مغز منجر به کاهش معنی‌دار تأخیر در ورود به اتاق تاریک نسبت به گروه سالین - گرلین - مورفین شد. آنالیز واریانس یک‌طرفه همچنین نشان داد هیچ اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های لیدوکائین - سالین - مورفین و سالین - سالین - مورفین وجود ندارد (P=0/0283) (نمودار شماره 2).



نمودار شماره 1: اثر تزریق مقادیر مختلف گرلین پس از آموزش به تنهایی یا همراه با مورفین بر حافظه اجتنابی غیرفعال. هر ستون نمایانگر میانگین ± انحراف از میانگین مربوط به 7 سر موش صحرایی نر در هر گروه می‌باشد. P<0/001*** در مقایسه با گروه سالین - سالین و P<0/001+++ در مقایسه با گروه سالین مورفین می‌باشد.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-12]



نمودارشماره 2: اثر غیر فعال کردن ناحیه سپتوم میانی (MS) بر اثرات گرلین بر فراموشی ناشی از مورفین. هرستون نمایانگر میانگین ± انحراف از میانگین مربوط به 7 سر موش صحرایی نر در هر گروه می‌باشد. P<0/001 *** در مقایسه با گروه سالین - گرلین- مورفین است.

بحث

در مطالعه حاضر تأثیر تزریق گرلین به درون ناحیه بطن جانبی بر فراموشی ناشی از مورفین و نیز نقش اختصاصی ناحیه سپتوم میانی در این برهمکنش مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از مطالعات قبلی نشان داده بود که تزریق پس از آموزش مورفین به صورت زیرجلدی تثبیت حافظه اجتنابی را مهار و سبب القاء فراموشی می‌شود(9). نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر نشان داد که تزریق گرلین به درون ناحیه بطن جانبی، 5 دقیقه قبل از تزریق زیرجلدی مورفین، اثر تخریبی مورفین بر حافظه را کاهش می‌دهد. همچنین مطالعه حاضر نشان داد در بروز اثر گرلین در مهار فراموشی ناشی از مورفین ناحیه سپتوم میانی نقش مهمی دارد. اثر مورفین بر یادگیری و حافظه در مطالعات مختلفی از جمله مطالعات فارماکولوژیک و رفتاری مورد بررسی قرار گرفته است. مشاهده شده است که تزریق زیر جلدی و یا سیستمیک مورفین تشکیل و به یادآوری حافظه را در انسان و حیوانات آزمایشگاهی مختل می‌کند(25،24). اثرات مورفین بر حافظه توسط گیرنده‌های اوپیوئیدی مو(mu) و برهمکنش آن‌ها با سیستم‌های نوروترانسمیتری و نوروپپتیدهای مختلف مغز میانجیگری می‌شود(27،26). مورفین با اتصال به گیرنده خود در نورون پیش‌سیناپسی و مسدود کردن کانال کلسیم وابسته به ولتاژ رهاسازی نوروترانسمیترهای تحریکی دخیل در فرآیندهای حافظه و یادگیری مانند گلوتامات و استیل‌کولین را کاهش می‌دهد. این دو نوروترانسمیتر برای انتقال اطلاعات و شکل‌گیری حافظه ضروری می‌باشند(28). مورفین همچنین با افزایش تشکیل انواع مختلف رادیکال‌های آزاد، عدم تعادل سطح آنتی‌اکسیدانی و سرکوب آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در نورون‌های هیپوکمپ منجر به استرس در شبکه آندوپلاسمی، پراکسیداسیون لیپید، آسیب DNA، اکسیداسیون پروتئین، القاء آپوپتوزیس و ایجاد اتوفاژی می‌شود که نتیجه آن کاهش تراکم سیناپس‌های تحریکی و افزایش تراکم سیناپس‌های مهاری است(29). نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نشان داد که تزریق گرلین (3nmol/µl) به درون بطن جانبی، 5 دقیقه قبل از تزریق زیرجلدی مورفین، از اثر تخریبی مورفین بر حافظه ممانعت کرده و سبب بهبود حافظه در گروه‌های تیمار شده با مورفین می‌شود. مطالعات قبلی برهمکنش میان گرلین و سیستم اوپیوییدی را تأیید نموده است. در

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-12]

این راستا Zeng و همکارانش نشان دادند که تزریق گرلین به درون بطن جانبی، اثر ضد دردی مورفین را مهار می‌کند(30). همچنین، آنتاگونیست گرلین فعالیت حرکتی و افزایش دوپامین ناشی از مورفین را مهار می‌کند(5). به‌علاوه، نشان داده شده است که آنتاگونیست گرلین منجر به کاهش ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین می‌شود که یادگیری در آن نقش مهمی دارد(4).

Carlini و همکارانش در سال 2002 نشان دادند که تزریق داخل بطن جانبی گرلین حافظه اجتنابی را افزایش می‌دهد و با توجه به بیان گیرنده‌های گرلین در ناحیه هیپوکمپ و نقش هیپوکمپ در این نوع یادگیری، پیشنهاد دادند که این اثر توسط هیپوکمپ میانجیگری می‌شود(31). تزریق گرلین به درون ناحیه هیپوکمپ، فراموشی القاشده ناشی از مورفین را در مدل یادگیری اجتنابی غیرفعال مهار می‌کند، بنابراین می‌تواند در بهبود اختلالات حافظه ای ناشی از مورفین مورد توجه قرار گیرد(9). در تأیید این مکانیسم، نشان داده شده است که تزریق مستقیم گرلین به درون ناحیه هیپوکمپ سبب افزایش حافظه در روش یادگیری اجتنابی می‌شود(32). مطالعه قبلی ما نشان داد که در اثر مهاری گرلین بر فراموشی ناشی از مورفین در روش یادگیری اجتنابی، هیپوکمپ و گیرنده‌های نیکوتینی آن نقش دارند(15). از آن‌جایی که گیرنده‌های گرلین در نواحی مختلف مغز بیان می‌شوند و تزریق گرلین به درون ناحیه بطن جانبی سبب فعال‌شدن گیرنده‌های گرلینی در نواحی مختلف مغز می‌شود این احتمال وجود دارد که علاوه بر هیپوکمپ سایر نواحی مغزی بیان‌کننده گیرنده‌های گرلین نیز در این فرآیند نقش داشته باشند. مطالعات نشان می‌دهد گرلین باعث آزاد شدن گلوتامات از سیناپتوزوم‌های هیپوکمپ می‌شود. گرلین در سطح پیش‌سیناپسی احتمالاً با افزایش کلسیم باعث آزاد شدن گلوتامات می‌شود و باعث فعالیت گیرنده‌های AMPA و NMDA در نورون پس‌سیناپسی می‌شود، همچنین با فعال‌سازی گیرنده‌های GHSR و بیان زیرواحد NR2B نقش مهمی در تقویت طولانی مدت حافظه دارد. NR2B موجب فعال‌سازی آنزیم نیتریک اکسید سنتتاز و افزایش نیتریک اکسید می‌شود. از طرف دیگر گرلین با افزایش میزان کلسیم درون سلولی و فعالیت PKA منجر به فعالیت پروتئین CREB و به دنبال آن رونویسی از ژن‌های دخیل در تقویت حافظه می‌شود(33). گرلین همچنین با کاهش آپوپتوز، کاهش التهاب و استرس اکسیداتیو و همچنین بهبود عملکرد میتوکندریایی، بقای عصبی را بهبود می‌بخشد. شواهد نشان می‌دهد که گرلین با فعال نمودن PKC و PKA مکانیسم‌های آپوپتوزی را مهار می‌کند. فعال‌سازی این مسیرها با کاهش فعال شدن BAX و افزایش بیان Bcl2 موجب بهبود نسبت Bcl2/BAX و سرکوب آپوپتوز و بهبود بقای سلولی می‌شود(34). ناحیه سپتوم میانی یکی از نواحی قاعده‌ای مغز است که خروجی‌های متعدد و از جمله پایانه‌های کولینرژیک به نواحی گسترده‌ای از مغز ارسال می‌کند(35). نوروترانسمیتر استیل‌کولین و گیرنده‌های آن در فرآیند حافظه و یادگیری نقش مهمی دارند(36) به‌طوری‌که کاهش سطح استیل‌کولین در مغز سبب کاهش حافظه و افزایش آن سبب افزایش حافظه می‌شود(37). بعلاوه، مسیر کولینرژیک سپتوم- هیپوکمپ در تولید و تنظیم ریتم‌تتا در هیپوکمپ(18) نقش دارد و غیر فعال کردن آن سبب از دست رفتن حافظه می‌گردد(38). از طرفی نشان داده شده است که یکی از مکانیسم‌های دخیل در اثرات تخریبی مورفین کاهش فعالیت و رهایی استیل‌کولین در نواحی دخیل در حافظه از جمله هیپوکمپ است(41-38). یادگیری اجتنابی غیرفعال یک نوع یادگیری وابسته به هیپوکمپ است و فعالیت ناحیه سپتوم میانی و سیستم کولینرژیک جهت ثبیت حافظه در این روش ضروری است(42). لذا در مطالعه حاضر، با استفاده از تکنیک غیرفعال‌سازی موقت توسط تزریق لیدوکائین، نقش ناحیه سپتوم میانی در اثرات گرلین بر فراموشی ناشی از مورفین در این نوع یادگیری مورد بررسی قرار گرفت. لازم به ذکر است که لیدوکائین یک

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-12]

داروی بی‌حس‌کننده موضعی است که نفوذپذیری نسبت به سدیم را کاهش داده و سبب غیرفعال شدن موقت انتقال پیام عصبی می‌شود. لذا در مطالعات متعدد جهت غیرفعال سازی عصبی از آن استفاده می‌شود(۴۴،۴۳).

نتایج به دست آمده نشان داد که غیرفعال کردن ناحیه سپتوم میانی توسط تزریق موضعی لیدوکائین، اثر تزریق پس از آموزش گرلین در بهبود فراموشی ناشی از مورفین را مهار می‌کند که بیانگر نقش ضروری ناحیه سپتوم میانی جهت بروز اثرات گرلین بر فراموشی ناشی از مورفین است.

Parfitt و همکارانش در سال 2012 نشان دادند که غیرفعال کردن ناحیه سپتوم میانی سبب نقص در یادگیری اجتنابی می‌شود(38). از طرفی سیستم کولینرژیک در بروز اثرات فیزیولوژیک گرلین نقش مهمی دارد.

Jerlhag و همکارانش در سال 2006 نشان دادند که تزریق گرلین به درون ناحیه بطن جانبی سبب افزایش رهایی دوپامین در ناحیه اکومبنس و بروز اثرات پاداشی می‌شود و این اثر توسط سیستم کولینرژیک میانجیگری می‌شود(45). در حالی که آنتاگونیست گیرنده‌های نیکوتینی کولینرژیک سبب کاهش اثر گرلین در تحریک غذا خوردن می‌شود(46).

مطالعه قبلی ما نیز نشان داد که تزریق آنتاگونیست گیرنده های نیکوتینی به درون ناحیه تگمنتوم شکمی اثر گرلین در بهبود فراموشی ناشی از مورفین را مهار می‌کند(16). همچنین، نشان داده شده است که تزریق محیطی و یا موضعی گرلین سبب افزایش رهایی استیل کولین می‌شود(47). از آن جایی که افزایش فعالیت سیستم کولینرژیک می‌تواند اثر مورفین بر حافظه را بهبود ببخشد(27) این احتمال وجود دارد که گرلین از طریق این مکانیسم با اثر مهاری مورفین مقابله نموده و سبب بهبود حافظه شود. گرچه باید توجه داشت که ناحیه سپتوم میانی خروجی‌های غیر کولینرژیک دیگری از جمله گلوتاماترژیک(48) به هیپوکمپ و قشر اینتورینال ارسال می‌کند و نباید نتایج به دست آمده از غیرفعال کردن این ناحیه را تنها به نورون‌های کولینرژیک آن نسبت داد. لذا انجام مطالعات بیش‌تری جهت مشخص شدن نوروترانسمیترهای ناحیه سپتوم که در این برهمکنش نقش دارند، ضروری است. براساس مطالعه حاضر می‌توان نتیجه گرفت که اثر تزریق داخل بطن جانبی گرلین بر فراموشی ناشی از مورفین توسط غیرفعال شدن ناحیه سپتوم میانی، مهار می‌شود که این امر نشان دهنده نقش مهم این ناحیه در برهمکنش میان گرلین و مورفین در بروز اثرات شناختی است.

سپاسگزاری

بدین وسیله از زحمات کارشناسان و مسئولین آزمایشگاه تحقیقاتی فیزیولوژی جانوری دانشکده زیست شناسی دانشگاه اراک تشکر و قدردانی می شود.

References

1. Pang ZP, Han W. Regulation of synaptic functions in central nervous system by endocrine hormones and the maintenance of energy homoeostasis.
2. Kojima M, Kangawa K. Ghrelin: Structure and Function. Physiol Rev 2005; 85(2): 495-522.
3. Steiger A, Dresler M, Schüssler P, Kluge M. Ghrelin in mental health, sleep, memory. Mol Cell Endocrinol 2011; 340(1): 88-96.
4. Jerabek P, Havlickova T, Puskina N, Charalambous C, Lapka M, Kacer P, et al. Ghrelin receptor antagonism of morphine-induced conditioned place preference and behavioral and accumbens dopaminergic sensitization in rats. Neurochem Int 2017; 110: 101-113.
5. Sustkova-Fiserova M, Jerabek P, Havlickova T, Kacer P, Krsiak M. Ghrelin receptor antagonism of morphine-induced accumbens

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-12]

dopamine release and behavioral stimulation in rats. Psychopharmacology (Berl) 2014; 231(14): 2899-2908.

6. Meilandt WJ, Barea-Rodriguez E, Harvey SA, Martinez JLJr. Role of hippocampal CA3 mu-opioid receptors in spatial learning and memory. J Neurosci 2004; 24(12): 2953-2962.
7. Kutlu MG, Gould TJ. Effects of drugs of abuse on hippocampal plasticity and hippocampus-dependent learning and memory contributions to development and maintenance of addiction. Learn Mem 2016; 23(10): 515-533.
8. Beck B, Pourié G. Ghrelin, neuropeptide Y, and other feeding-regulatory peptides active in the hippocampus: role in learning and memory. Nutr Rev 2013; 71(8): 541-561.
9. Darbandi1 N, Nazari Serenjeh F, Moradi P. The Effect of Intrahippocampal Injection of Ghrelin on Morphine-Induced Amnesia by Passive Avoidance Task in Male Laboratory Rats. Qom Univ Med Sci J 2018; 12(8): 19-29 (Persian).
10. Diano S, Farr SA, Benoit SC, McNay EC, da Silva I, Horvath B. Ghrelin controls hippocampal spine synapse density and memory performance. Nat Neurosci 2006; 9: 381-388.
11. Beheshti S, Aslani N. Local injection of D-lys-3-GHRP-6 in the rat amygdala, dentate gyrus or ventral tegmental area impairs memory consolidation. Neuropeptides 2018; 67: 20-26.
12. Ghersi MS, Gabach LA, Buteler F, Vilcaes AA, Schiöth HB, Perez MF, et al. Ghrelin increases memory consolidation through hippocampal mechanisms dependent on glutamate release and NR2B-subunits of the NMDA receptor. Psychopharmacology (Berl) 2015; 232(10): 1843-1857.
13. Cuellar JN, Isokawa M. Ghrelin-induced activation of cAMP signal transduction and its negative regulation by endocannabinoids in the hippocampus. Neuropharmacology 2001; 60(6): 842-851.
14. Moon M, Choi JG, Nam DW, Hong HS, Choi YJ, Oh MS, et al. Ghrelin ameliorates cognitive dysfunction and neurodegeneration in intrahippocampal amyloid-β1-42 oligomer-injected mice. J Alzheimers Dis 2011; 23(1): 147-159.
15. Nazari-Serenjeh F, Darbandi N, Majidpour S, Moradi P. Ghrelin modulates morphine-nicotine interaction in avoidance memory: involvement of CA1 nicotinic receptors. Brain Res 2019; 146315.
16. Nazari-serenjeh F, Darbandi N, Yadegary A, Momeni HR. The Effect of Intra-ventral tegmental area injection of ghrelin on morphine-induced amnesia in Male rats: An Experimental Study. J Rafsanjan Univ Med Sci 2019; 18(2): 147-160 (Persian).
17. Mamad O, McNamara HM, Reilly RB, Tsanov M. Medial septum regulates the hippocampal spatial representation. Front Behav Neurosci 2015; 30:9:166.
18. Yoder RM, Pang KC. Involvement of GABAergic and Cholinergic Medial Septal in Hippocampal Theta Rhythm. Hippocampus 2005; 15(3): 381-392.
19. Alijanpour S, Rezayof A. Involvement of dorsal hippocampal and medial septal nicotinic receptors in cross state-dependent memory between WIN55, 212-2 and nicotine or ethanol in mice. Neuroscience 2013; 45: 61-73.
20. Manseau F, Danik M, Williams S. A functional glutamatergic neurone network in the medial septum and diagonal band area. J Physiol 2005; 566(3): 865-884.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-12]

21. Jang SH, Yeo SS. Thalamocortical tract between anterior thalamic nuclei and cingulate gyrus in the human brain: Diffusion tensor tractography study. Brain Imaging Behav 2013; 7(2): 236-241.
22. Drever BD, Riedel G, Platt B. The cholinergic system and hippocampal plasticity. Behav Brain Res 2011; 221(2): 505–514.
23. Zigman JM, Jones JE, Lee CE, Saper CB, Elmquist JK. Expression of ghrelin receptor mRNA in the rat and the mouse brain. J Comp Neurol 2006; 494(3): 528-548.
24. Ghasemzadeh Z, Rezayof A. Neuromodulatory effects of the dorsal hippocampal endocannabinoid system in dextromethorphan/ morphine-induced amnesia. Eur J Pharmacol 2017; 794: 100-105.
25. Kitanaka J, Kitanaka N, Hall FS, Fujii M, Goto A, Kanda Y, et al.Memory Impairment and Reduced Exploratory Behavior in Mice after Administration of Systemic Morphine. J xp Neurosci 2015; 9: 27-35.
26. Sharifi KA, Rezayof A, Torkaman-Boutorabi A, Zarrindast MR. The major neurotransmitter systems in the basolateral amygdala and the ventral tegmental area mediate morphine-induced memory consolidation impairment. Neuroscience 2017; 353: 7-16.
27. Khajehpour L, Rezayof A, Zarrindast MR. Involvement of dorsal hippocampal nicotinic receptors in the effect of morphine on memory retrieval in passive avoidance task . Eur J Pharmacol 2008; 584(2-3): 343-351.
28. Yu C, Lu Y, Guoku H, Xufeng C, Fang N, Li Y, Han L, Huangui X. Regulation of morphine-induced synaptic alterations: Role of oxidative stress, ER stress, and autophagy. J Cell Biol 2016; 215(2): 245-258.
29. Skrabalova J, Drastichova Z, Novotny J. Morphine as a Potential Oxidative Stress-Causing Agent. Mini Rev Org Chem 2013; 10(4): 367-372.
30. Zeng P, Chen JX, yang B, Zhi X, Guo FX, Sun ML, et al. Attenuation of systemic morphine-induced analgesia by central administration of ghrelin and related peptides in mice. Peptides 2013; 50: 42-49.
31. Carlini VP, Monzón ME, Varas MM, Cragnolini AB, Schiöth HB, Scimonelli TN, et al. Ghrelin increases anxiety-like behavior and memory retention in rats. Biochem Biophys Res Commun 2002; 299(5): 739-743.
32. Kajbaf F, Ahmadi R, Fatemi Tabatabaie R, Safarpoor E. Effect of intrahippocampal ghrelin agonist administration on passive avoidance learning and anxiety in rats. Pak J Biol Sci 2012; 15(22): 1063-1068.
33. Qian J, Du X, Li Y, Gong B, Shi L, Tang T, et al. The neurological effects of ghrelin in brain diseases: Beyond metabolic functions. Neurosci Biobehav Rev 2017; 73: 98-111
34. Lisman J, Schulman H, Cline H. The molecular basis of CaMKII function in synaptic and behavioural memory. Nat Rev Neurosci 2002; 3(3): 175-190.
35. Khakpai F, Nasehi M, Haeri-Rohani A, Eidi A, Zarrindast MR. Septo-Hippocampo-Septal Loop and Memory Formation. Basic Clin Neurosci 2013; 4(1): 5-23.
36. Gold PE. Acetylcholine modulation of neural systems involved in learning and memory. Neurobiol Learn Mem 2003; 80(3): 194-210.
37. Hasselmo MH. The Role of Acetylcholine in Learning and Memory. Curr Opin Neurobiol 2006; 16(6): 710-715.
38. Hasselmo E, Stern CE. Theta rhythm and the encoding and retrieval of space and time. Neuroimage 2014; 85(pt 02): 656-666.
39. Decker MW, McGaugh JL. The role of interactions between the cholinergic system

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-12]

and other neuromodulatory systems in learning and memory. Synapse 1991; 7(2): 151-168.

40. Jackisch R, Geppert M, Brenner AS, Illes P. Presynaptic opioid receptors modulating acetylcholine release in the hippocampus of the rabbit. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 1986; 332: 156-162.
41. Li Z, Wu CF, Pei G, Xu NJ. Reversal of morphine-induced memoryimpairment in mice by withdrawal in Morr water maze: Possible involvement of cholinergic system. Pharmacol Biochem Behav. 2001; 68: 507-513.
42. Parfitt GM, Campos RC,Barbosa AK, Koth AP, Barros DM. Participation of hippocampal cholinergic system in memory persistence for inhibitory avoidance in rats. Neurobiol Learn Mem. 2012; 97: 183–188.
43. Salazar BC, Flash DO, Walewski JL, Recio-Pinto E. Lidocaine has different effects and potencies on muscle and brain sodium channels. Brain Res 1995; 699(2): 305-314.
44. Malpeli JG. Reversible inactivation of subcortical sites by drug injection. J Neurosci Methods 1999; 86(2): 119-128.
45. Jerlhag E, Egecioglu E, Dickson SL, Andersson M, Svensson L, Engel JA. Ghrelin stimulates locomotor activity and accumbal dopamine-overflow via central cholinergic systems in mice: implications for its involvement in brain reward. Addict Biol 2006; 11(1): 45-54.
46. Dickson SL, Hrabovszky E, Hansson C, Jerlhag E, Alvarez-Crespo M, Skibicka KP, et al. Blockade of central nicotine acetylcholine receptor signaling attenuate ghrelin-induced food intake in rodents. Neuroscience. 2010; 171(4): 1180-1186.
47. Jerlhag E, Janson AC, Waters S, Engel JA. Concomitant Release of Ventral Tegment al Acetylc holine and Accumbal Dopamine by Ghrelin in Rats. PloS One 2012; 7(11): e49557.
48. Colom LV, Castaneda MT, Reyna T, Hernandez S, Garrido- Sanabria E. Characterization of medial septal glutamatergic neurons and their projection to the hippocampus. Synapse 2005; 58: 151-164.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-12]