

## لوکالیزاسیون و توزیع توپوگرافیک منشأ آورانهای تشکیلات هیپوکامپ به سپتوم در موش صحرائی

پریچهر پاس بخش Ph.D.\*<sup>۱</sup>، هاشم حقدوست Ph.D.\*<sup>۲</sup>، ژیلا بهزادی Ph.D.\*<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، گروه آناتومی

<sup>۲</sup> دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی

<sup>۳</sup> تهران، صندوق پستی ۶۴۴۷-۱۴۱۵۵، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، گروه آناتومی

### چکیده

**هدف:** ناحیه سیتال یک مرکز مهم تانسفالیک است که نقش مهمی در فرایندهای یادگیری، هیجانی، رفتار جنسی و کنترل اعمال اتونومیک ایفا می‌نماید. این ناحیه دارای ۲ بخش اصلی سپتوم جانبی (LS: Lateral Septal) و سپتوم میانی (MS: Medial Septal) می‌باشد که هر دو آورانهای قابل ملاحظه‌ای از تشکیلات هیپوکامپ دریافت می‌کنند. در این مطالعه، ما توزیع کمی و کیفی نورونهای منشأ این آورانها را مورد مقایسه قرار دادیم.

**مواد و روشها:** در دو گروه متفاوت از موشهای صحرائی نر، مقدار یک میکرولیتر Horse Radish Proxidase (HRP) (۲۵ - ۲۰ درصد) بوسیله جراحی استریوتاکسیک و با استفاده از سرنگ هامیلتون به درون سپتوم میانی یا سپتوم جانبی تزریق گردید. پس از گذشت ۴۸ تا ۷۲ ساعت بافت مغز به روش پرفیوژن از راه بطن چپ تثبیت گردید. پس از تهیه مقاطع ۷۰ میکرونی و انجام واکنشهای هیستوشیمیایی TMB مقاطع با استفاده از رنگ قرمز ختنی رنگ آمیزی شدند.

**یافته‌ها:** متعاقب تزریق به هر دو ناحیه سپتوم جانبی و میانی، نورونهای نشاندار شده بصورت رتروگراد در نواحی CA1-2 شاخ آمون و ساییکولوم و پره ساییکولوم در تشکیلات هیپوکامپ مشاهده شدند. شمار این نورنها پس از تزریق به سپتوم جانبی در مقایسه با بخش سپتوم میانی بیشتر بود. نحوه توزیع این نورونها و همچنین رنگ نورونهای دریافت‌کننده HRP پس از تزریق به سپتوم جانبی پررنگتر از آنها پس از تزریق به سپتوم میانی بود.

**نتیجه‌گیری:** نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان می‌دهد که اگرچه هر دو سپتوم جانبی و میانی از تشکیلات هیپوکامپ آوران دریافت می‌دارند لکن تفاوت قابل ملاحظه‌ای در توزیع کمی منشأ هیپوکامپی این آورانها وجود دارد که می‌تواند مبنایی برای عملکرد متفاوت این دو ناحیه از سپتوم باشد.

**کل واژگان:** ناحیه سیتال، هیپوکامپ، ردیاب HRP، آورانهای سپتوم

## مقدمه

ناحیه سپتال قسمتی از تانسفال است که در بین شاخه‌های قدامی بطن‌های جانبی و در زیرکوروبوس کالوزوم قرار می‌گیرد. این ناحیه در کنترل بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیک و رفتاری که در ارتباط با اعمال سطح بالای ذهنی نظیر یادگیری و حافظه، هیجانات، ترس، رفتار تهاجمی و استرس است می‌باشد.

بر طبق آخرین یافته‌های آناتومیک و فیزیولوژیک این ناحیه به سه بخش سپتوم پشتی (Dorsal)، سپتوم جانبی و سپتوم میانی (Medial) تقسیم می‌شود (۱). سپتوم خلفی (پشتی) در واقع در امتداد سپتوم جانبی در بخش خلفی سپتوم می‌باشد و شامل دو هسته‌تری انگولار و Septofimbrial و دسته فیبرهای فورنیکس می‌باشد. سپتوم جانبی بزرگترین بخش ناحیه سپتال بوده که آورانهای فراوانی را از نواحی گوناگون در تانسفال، دیانسفال و ساقه مغز دریافت می‌دارد (۶-۲). ارتباط آورانی این بخش از تشکیلات هیپوکامپ در موش صحرایی و دیگر جانوران به خوبی توضیح داده شده است (۱۰-۶). از طرف دیگر ناحیه میانی سپتوم منشأ فیبرهای سته‌هیپوکامپ بوده که یک مسیر مهم در رابطه با حافظه کاری غیرفضایی و خاطره فضایی می‌باشد (۱۱، ۱۲). تحقیقات زیادی بر روی ویژگی‌های فیزیولوژیک، آناتومیک و فارماکولوژیک این مسیر انجام شده است

(۲۱-۱۳)، در مقابل بر روی آورانها از تشکیلات هیپوکامپ به سپتوم میانی گزارش کمتری در دسترس می‌باشد. با این وجود در گزارش ارائه شده توسط Gaykema و همکاران در سال ۱۹۹۱ با استفاده از تکنیک ردیابی انتروگراد PHA-L این آورانها توضیح داده شده‌اند (۲۲).

مطالعه مقالات و متون مختلف بر روی عملکرد ناحیه سپتال مشخص می‌سازد که از نظر عملکردی دو ناحیه سپتوم میانی و سپتوم جانبی بصورت مجزا عمل نموده و درگیر در فرایندهای تقریباً مجزایی می‌باشند. از طرف دیگر بررسی سیستم‌های آورانی به ناحیه سپتال نشان می‌دهد که منشأ آورانها به ناحیه سپتوم میانی و جانبی تقریباً مشابه می‌باشد. بعنوان مثال نواحی یکسانی در تشکیلات هیپوکامپ دو ناحیه سپتوم جانبی و میانی را عصب دهی می‌نمایند. (۱۴، ۱۵).

سپتوم میانی نقش مهمی در رابطه با حافظه و یادگیری دارا می‌باشد ولی سپتوم جانبی با دریافت آورانها از بسیاری از نواحی مغز و از طریق رله و تعدیل آنها، در کنترل بسیاری از رفتارهای تهاجمی، جنسی و اجتماعی، اعمال اتونومیک مانند کنترل آشامیدن آب و خوردن نمک نقش دارد (۱). ارتباطات یک ناحیه از بهترین وسایل برای درک مکانیسم‌های فیزیولوژیک عملکرد آن ناحیه می‌باشد. ضمناً مطالعات گذشته ارتباط آورانی وسیعی از تشکیلات هیپوکامپ به ناحیه سپتوم را گزارش نموده‌اند. بنابراین با توجه به اینکه نشان دادن آورانهای یک هسته در رابطه با تنوع و وسعت محل تزریق ردیاب و دربرگرفتن نقاط مختلف آن هسته در تزریق‌های پی در پی می‌باشد، در این تحقیق سعی شده است که با استفاده از تزریق مقادیر نسبتاً زیاد HRP که می‌تواند حجم قابل ملاحظه‌ای از ناحیه موردنظر را دربرگیرد، بررسی مجددی بر روی توزیع نورونهای منشأ آورانها به سپتوم میانی و سپتوم جانبی از تشکیلات هیپوکامپ به عمل آید و توزیع آنها بصورت کمی و کیفی

مورد مقایسه قرار گیرد.

## مواد و روشها

## \* مدل بیولوژیک

تحقیق حاضر بر روی ۲۵ موش صحرایی نر از نژاد Sprague-Dawley (انستیتو پاستور تهران) با وزن ۲۸۰-۲۲۰ gr انجام گرفت. موشها در حیوانخانه در تحت شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و دمای  $21 \pm 3^\circ\text{C}$  سانتیگراد نگهداری شده و به دو گروه تقسیم شدند. گروه اول ( $n=13$ ) موشهایی بودند که مطالعه بر روی سپتوم جانبی (LS) آنها صورت گرفت و گروه دوم ( $n=12$ ) شامل موشهایی بود که در آنها، آورانهای سپتوم میانی (MS/DDB) بررسی شد. روش کار برای هر دو گروه یکسان بوده و تنها در مختصات محل تزریق با یکدیگر تفاوت داشتند.

## \* نحوه تزریق HRP

HRP مورد استفاده تیپ VI (۵۰۰۰ واحدی - سیگما) با غلظت ۲۵-۲۰ درصد بود که از حل کردن پودر HRP در سرم فیزیولوژی حاصل می‌شد. ابتدا موشها با ترکیبی از کتامین و گزیلازین بصورت IP بیهوش شده و سپس با استفاده از جراحی استریوتاکسیک و از طریق سرنگ هامیلتون یک میکرولیتری به مقدار یک میکرولیتر ردیاب تزریق گردید.

تزریق بر طبق اطلس پاکینوس و با مرجع برگما تعیین گردید (۲۳). این مختصات برای سپتوم جانبی (۸/۰ mm) و (۱/۰ AP: ۵/۰ mm) و برای سپتوم میانی (۸/۰ mm) و (۲/۰ AP: ۵/۰ mm) بود.

مقدار HRP تزریق شده یک میکرولیتر و سرعت تزریق ۲۰۰ nL در دقیقه بود. پس از تزریق برای ۱۰-۱۵ دقیقه سرنگ در مکان خود باقی ماند تا از پخش شدن HRP جلوگیری شود. پس از پایان تزریق موضع را ضدعفونی کرده، بخیه زده و پس از بیهوش آمدن موش به حیوانخانه برگردانده شد.

## \* پرفیوژن در مراحل تثبیت

۴۸-۷۲ ساعت پس از تزریق، که زمان مورد نیاز برای جذب و انتقال ماده ردیاب می‌باشد، موشها با همان ترکیب قبلی کتامین و گزیلازین از طریق IP عمیقاً بیهوش شدند. بعد از بازکردن قفسه سینه حیوان قلب را از پریکارد جدا کرده و پرفیوژن از طریق بطن چپ انجام شد. به مقدار ۱/۰ cc نیتريت سدیم ۱ درصد بعنوان گشادکننده عروقی و ۵/۰ cc هپارین برای جلوگیری از انعقاد خون تزریق شد. سپس در ابتدا توسط ۱۰۰ میلی لیتر نرمال سالین ۰/۹ درصد برای شستشوی کامل عروق مغزی به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه استفاده شد. در ادامه ۵۰۰ میلی لیتر محلول فیکساتیو حاوی گلوآل‌آلدئید ۱/۲۵ درصد و پارافمالدهید ۱ درصد در بافر فسفات ۰/۱ M (pH=۷/۴) عبور داده شد. در خاتمه توسط ۲۰۰ میلی لیتر محلول ساکارز ۵-۱۰ درصد در بافر فسفات ۰/۱ M به مدت ۳۰ دقیقه عروق مغز شستشو داده شدند.

دیگر بخش‌های سپتوم جانبی (LSV و LSD) و تا حدودی سپتوم خلفی را دربرمی‌گرفت. در نمونه‌هایی که تزریق در سپتوم میانی آنها صورت گرفته بود (شکل ۲ B و A) کانون تزریق در هسته MS و بازوی عمودی باند دیاگونال بروکا (VDB) در تمامی طول محور سری - دمی از خط وسط تا مرز جانبی را دربرمی‌گرفت.

### \* توزیع نورونهای نشاندار شده با HRP

از مجموع ۱۳ موش که ماده ردیاب به ناحیه سپتوم جانبی آنها تزریق شده بود تنها در ۶ موش پاسخ مناسب حاصل شد. متعاقب تزریق ردیاب به سپتوم جانبی (شکل ۱ A) نورونهای نشاندار شده بطور یک طرفه در بخش پشتی ناحیه CA1 شاخ آمون و ساییکولوم در سطح دمی تشکیلات هیپوکامپ شاخص گردیدند. در ناحیه CA2 نیز شمار کمی از سلولهای نشاندار مشاهده شدند (شکل ۱ B تا D).

توزیع سلولهای نشاندار به گونه‌ای بود که بالاترین تجمع را در ناحیه مرزی ساییکولوم و CA1 داشتند و به طرف بخش‌های میانی در ساییکولوم و شکمی در CA1 از تراکم آنها به نحو چشمگیری کاسته می‌شد. در بخش‌های دمی تشکیلات، جایی که این ساختمان در تمام طول پشتی - شکمی مغز امتداد دارد، سلولهای واجد HRP از بخش پشتی تشکیلات یعنی شکنج رترواسپینال (RSG / Retrosplenial) و ناحیه پره ساییکولوم (Prs) تا ادامه نواحی شکمی CA1 مشاهده می‌شدند. این نحوه توزیع، بویژه در CA1 و ساییکولوم، متعاقب تزریق ماده ردیاب به بخش‌های مختلف ناحیه سپتوم جانبی در طول محور سری - دمی، مشاهده شد و تغییر در محل تزریق، تغییر کمی در توپوگرافی سلولهای نشاندار در CA1 و ساییکولوم ایجاد نمود. شکل ۱ توزیع نورونهای نشاندار را در تشکیلات هیپوکامپ متعاقب تزریق ردیاب به LS نشان می‌دهد. همانطور که در این تصاویر مشاهده می‌شود در مرز CA1/S سلولهای نشاندار در تمامی ضخامت لایه پیرامیدال حضور دارند و در واقع تشکیل چند ردیف سلول در این ناحیه را می‌دهند در حالی که به طرف نواحی شکمی و CA2، سلولها بیشتر در یک لایه و با تراکم کمتر قرار می‌گرفتند. از ۱۲ موش که تزریق ردیاب به ناحیه MS/DBB در آنها صورت گرفته بود در ۸ موش محل تزریق مناسب تشخیص داده شد.

تزریق ردیاب به ناحیه سپتوم میانی (شکل ۲ A و B) نیز سبب نشاندار شدن شماری از نورونها در لایه پیرامیدال تشکیلات هیپوکامپ گردید. در این مورد نیز نشان دار شدن نورونها (شکل ۲ C) بصورت یک طرفه در طرف تزریق در سطوح دمی تشکیلات صورت گرفته بود و بخش‌های پشتی CA1 و ساییکولوم حاوی نورونهای نشاندار بودند. این نورونها اصولاً در ناحیه مرزی CA1 و ساییکولوم متمرکز بودند و دیگر نورونهای نشاندار در CA1 و ساییکولوم در نزدیکی این مرز قرار می‌گرفتند. شمار نورونها در CA2 بسیار ناچیز و بخش‌های شکمی CA1 و ساییکولوم فاقد نورونهای نشاندار بودند.

نورونهای نشاندار در تشکیلات هیپوکامپ پس از تزریق به MS بسیار کم رنگ بودند به طوری که تشخیص آنها در نواحی سری تشکیلات و همچنین در نواحی به غیر از مرز CA1/S مشکل و نیاز به

سپس مغز را از جمجمه خارج کرده و در همان محلول فیکساتیو به مدت ۲۴ ساعت قرار دادیم.

### \* برشگیری

توسط دستگاه ویراتوم مقاطع کرونال ۷۰ میکرومتری در جهت روسترال به کودال از مغز تهیه و در ظرف مخصوص (Multidish) حاوی بافر فسفات ۰/۱ M (pH = ۷/۴) در یخچال نگهداری شدند. مقاطع بصورت یک در میان جهت انجام واکنش هیستوشیمیایی انتخاب شدند.

### \* واکنش هیستوشیمیایی

این عمل بر طبق روش Mesulam 1982 به ترتیب زیر انجام گرفت (۲۴). برشها به مدت ۲۰ دقیقه در ظرفی حاوی نیتروفری سیانید (سیگما) و تترامیل بنزیدین (TMB-Sigma) در تاریکی مطلق انکوبه شدند. سپس مقدار ۱ میلی لیتر محلول ۰/۳ درصد آب اکسیژنه به محلول انکوباسیون اضافه گردید. سپس برشها با محلولی از بافر اسنات شستشو داده شدند. مقاطع روی لامهای ژلاتینه شده قرار داده و خشک شدند.

### \* رنگ آمیزی

به دنبال خشک شدن کامل مقاطع رنگ آمیزی با استفاده از رنگ فرمز خنثی انجام شد. پس از این مراحل لامل‌گذاری توسط چسب اتلان (Merck) انجام شد.

### \* مطالعات میکروسکوپی

کلیه نمونه‌ها با کمک میکروسکوپ نوری و با استفاده از اطلس پاکسینوس و واتسون مورد مطالعه قرار گرفتند. نمونه‌های مناسب با استفاده از میکروسکوپ Zeiss عکسبرداری شدند.

### \* آنالیز کمی و آماری

به منظور برآورد تعداد سلولهای نشاندار شده در کل هسته مورد مطالعه برای هر نمونه از فرمول زیر استفاده شده است.

$$N_t = N_s \frac{St}{S_s}$$

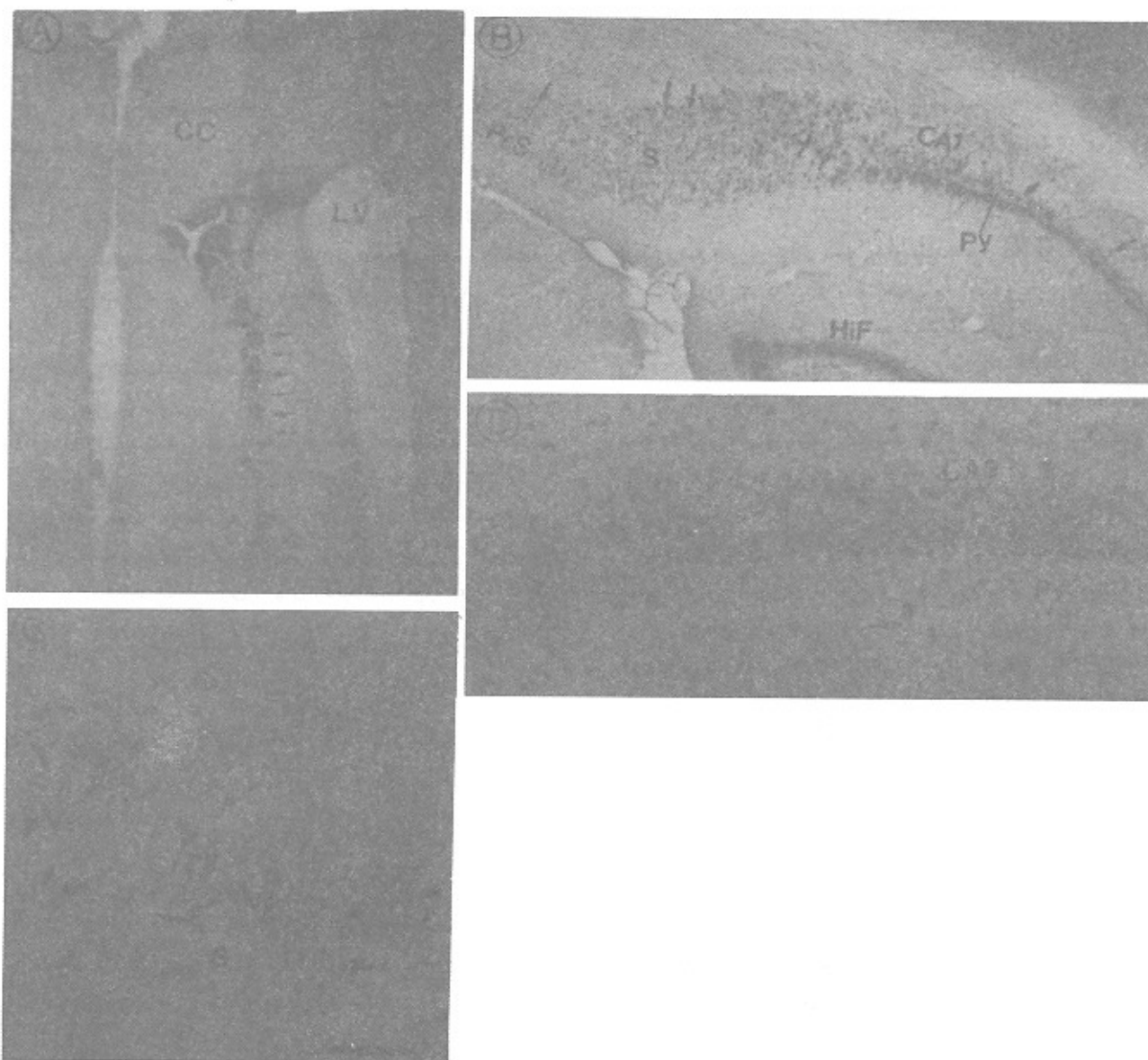
تعداد کل سلولهای شمارش شده در نمونه مورد مطالعه = NS

تعداد کل مقاطع هسته مورد مطالعه = St

تعداد کل مقاطع نمونه برداری شده = Ss

### یافته‌ها

محل تزریق در شکل ۱، تصویر A محل تزریق در سپتوم جانبی را نشان می‌دهند. در مجموع کانون تزریق بخش میانی هسته سپتوم جانبی در محور پشتی - شکمی و در بخش بینابینی ناحیه بین بطن جانبی و خط میانی را دربرمی‌گرفت. به طرف سطح شکمی LS به میزان زیادی از تراکم ماده ردیاب کاسته می‌شد. در محور سری - دمی ۱/۱ میانی هسته (برگما ۱ - ۰/۲) در کانون تزریق قرار داشت. در مجموع کانون تزریق در بخش بینابینی هسته سپتوم جانبی قرار داشت. گسترش ماده ردیاب



شکل ۱- A- تصویر از محل تزریق در سپتوم جانبی است که پیکانها محل وارد شدن سرنگ باسپتوم جانبی را نشان می‌دهند. B- نورونهای نشاندارشده در قسمت پشتی تشکیلات هیپوکامپ و CA1 و S (سوبیکولوم) می‌باشد. خط مقیاس- ۳۸۱/۵ میکرون. C- درشت نمائی بزرگتر از B می‌باشد. D- نورنهای نشاندار از ناحیه CA2 که در ادامه تصویر B می‌باشد. خط مقیاس - ۶۴ میکرون

PPA

نشان می‌دهد. مطالعه این نمودار نشان می‌دهد که اگر چه فیبرهای نورونهای مرتبط با LS و MS از نواحی یکسانی از تشکیلات هیپوکامپ منشأ می‌گیرند، لکن از نظر کمی اختلاف قابل ملاحظه‌ای بین آنها وجود دارد. در مجموع تعداد نورونهای نشاندارشده در تشکیلات هیپوکامپ متعاقب تزریق به LS در حدود ۳ برابر بیشتر از زمانی بود که در MS تزریق می‌شد. این اختلاف در مورد نواحی CA1 و CA2 و سایکولوم بخوبی آشکار است. تنها در CA1/S است که اختلاف آنها به کمترین حد خود می‌رسد. این شکل نشان می‌دهد در حالی که وابرانهایی از تشکیلات هیپوکامپ به ناحیه سپتوم میانی از نواحی لوکالیزه منشأ می‌گیرند، یک ارسال همه جانبه از تمامی نواحی بخش خلفی این تشکیلات به LS گسیل می‌شود. این موضوع در محور سری - دمی تشکیلات نیز صدق می‌کند (شکل ۴).

مطالعه دقیق داشت. در مرز CA1/S که سلولها مشخص تر بودند حداکثر رنگ پذیری آنها متوسط بود. این در حالیست که تشخیص نورونهای نشاندار شده با HRP در تمامی نواحی تشکیلات پس از تزریق به سپتوم جانبی به آسانی و با یک مطالعه ساده صورت می‌گرفت و اکثر آنها دارای رنگ پذیری زیادی بودند.

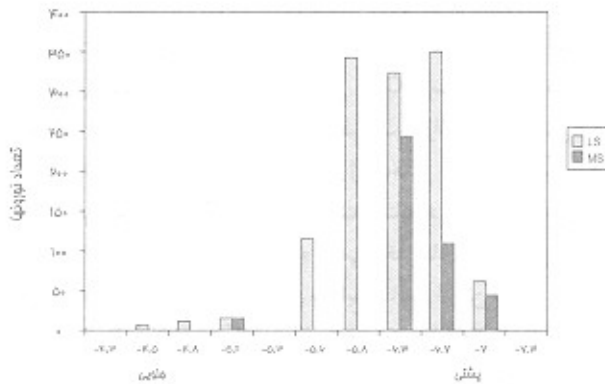
در هر دو نمونه‌های LS و MS هیچ نورون نشاننداری در CA3 طرف تزریق و تشکیلات هیپوکامپ طرف مقابل تزریق مشاهده نگردید.

#### \* مقایسه کمی

شکل ۳ یک مقایسه کمی از شمار نورونهای نشاندار در نواحی مختلف تشکیلات هیپوکامپ متعاقب تزریق به LS و MS را



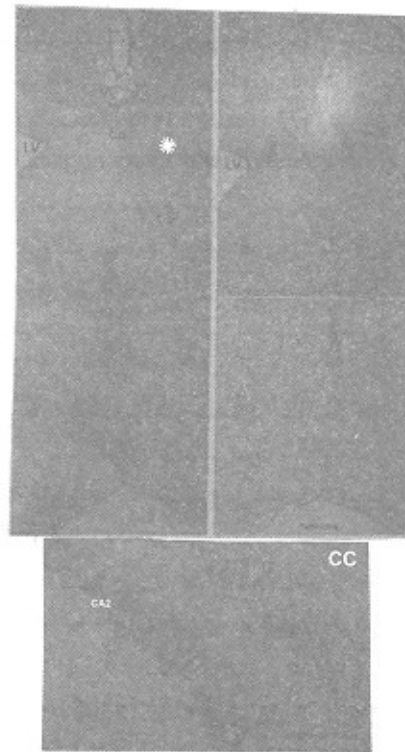




شکل ۴: هیستوگرام چگونگی توزیع نورونهای نشاندار شده در محور سری - دمی تشکیلات هیپوکامپ متعاقب تزریق ردياب به سپتوم جانی و سپتوم میانی می‌باشد. اعداد فاصله از برگه را نشان می‌دهند. در هر دو گروه، پروژکت، از نیمه خلفی تشکیلات منشأ می‌گیرند و طی در مورد سپتوم میانی سلولهای منشأ بصورت متمرکزتری قرار گرفته‌اند.

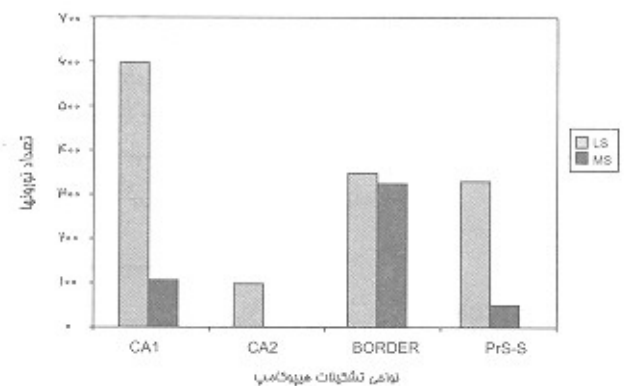
### بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که نواحی CA2 و CA1 شاخ آمون و ساییکولوم در نواحی دمی تشکیلات هیپوکامپ آورانهای فراوانی را به نیمه شکمی هسته سپتوم جانی ارسال می‌دارند. بیشترین تراکم سلولهای نشاندار شده در بخش‌های پستی CA1 و ساییکولوم، در بخش خلفی تشکیلات هیپوکامپ مشاهده شد و بطرف بخش‌های شکمی در هیپوکامپ خلفی (که ناحیه CA2 را نیز شامل می‌شود)، تراکم سلولها به میزان زیادی کاهش می‌یافت. هیچ سلول نشاندار در CA1 و ساییکولوم بخش‌های سری تشکیلات هیپوکامپ مشاهده نشد. این نحوه توزیع سلولهای نشاندار شده متعاقب تزریق ردياب به بخش‌های مختلف LS در طول محور سری - دمی بطور یکسانی مشاهده شد. در ناحیه CA1 و ساییکولوم تعداد و نحوه توزیع سلولهای نشاندار الگوی مشابهی را نشان می‌دادند. تمامی سلولهای نشاندار شده هرمی شکل بوده و در لایه پیرامیدال حضور داشتند. در گزارش ارائه شده توسط Swanson و Cowan (۱۹۷۹) (۶) یک الگوی توپوگرافیک برای، آورانها از تشکیلات هیپوکامپ به هسته سپتوم جانی معرفی می‌شود. بر اساس این گزارش آورانها از بخش سپتالی (Rostrodorsal) شاخ آمون و ساییکولوم در بخش پستی LS ختم می‌شوند و بطرف بخش‌های تمپورال (Caudoventral)، سلولها در تشکیلات هیپوکامپ، بخش‌های شکمی تر LS را عصب دهی می‌نمایند. الگوی توپوگرافیک مشابهی توسط Ino و همکاران با استفاده از تکنیک رديابی انتروگراد WGA-HRP، در گربه گزارش شده است. در این منابع، منشأ سلولهای پروژکت کننده در لایه پیرامیدال عنوان شده است. در مطالعه حاضر، نشاندار شدن سلولها از بخش میانی تشکیلات هیپوکامپ در محور سری - دمی شروع و به سمت بخشهای خلفی تشکیلات افزایش می‌یافت و دوباره در قطب تمپورال شمار سلولهای نشاندار کاهش می‌یافت. کانون تزریق در نمونه‌های مطالعه حاضر در نیمه شکمی LS قرار داشت که بخش‌های میانی تر در محور پستی - شکمی بیشترین



شکل ۵: تصویر مربوط به محل تزریق ردياب به سپتوم میانی می‌باشد. ستاره و پیکانها در تصویر A فیبرهایی که به طریق رتروگراد HRP را انتقال می‌دهند، نشان می‌دهند. C- نورونهای نشاندار در ناحیه CA2 تشکیلات هیپوکامپ (پیکان‌ها) را نشان می‌دهند. خط مقیاس= ۲۲ میکرون

همانطور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود بخش‌های بیشتری از تشکیلات در بخش خلفی درگیر عصب رسانی به ناحیه سپتال جانی می‌باشند.



شکل ۶: هیستوگرام مربوط به توزیع نورونهای نشاندار شده در نواحی مختلف تشکیلات هیپوکامپ متعاقب تزریق ردياب به سپتوم جانی و سپتوم میانی می‌باشد. بجز در ناحیه مرزی بین CA1 و ساییکولوم در دیگر نواحی تشکیلات، اختلاف قابل ملاحظه‌ای در شمار نورونهای نشاندار شده در دو گروه مشاهده می‌گردد. در ناحیه مرزی گرچه شمار سلولهای نشاندار شده در دو گروه تقریباً برابر بود ولی شدت رنگ در گروه سپتوم جانی بسیار بیشتر از گروه سپتوم میانی بود. CA1-2: fields of Ammon's horn، Border: مرز بین CA1 و ساییکولوم، PrS-S: پره ساییکولوم و ساییکولوم

بود. ۲- با اینکه اکثر سلولهای نشاندار در لایه پیرامیدال حضور داشتند ولی تعدادی سلول نشاندار شده در لایه‌های غیرهرمی نیز مشاهده شد. همچنین سلولهای نشاندار در نمونه‌های سپتوم میانی در مقایسه با نمونه‌های سپتوم جانبی بسیار کم رنگتر بودند. در تحقیقی که توسط Gaykema و همکاران (۲۲) با استفاده از روش ردیابی آنتروگراد PHA-L (Phaseolus Vulgaris Leucoagglutinin) انجام شده است، نشان داده شد که سپتوم میانی از نواحی CA1-3 شاخ آمون فیبرهایی را دریافت می‌دارد. این محققین در نهایت بیان می‌کنند که فیبرهای انتهایی در MS/DBB از هیپوکامپ، ظاهراً کولترالهایی از نورونهای غیرهرمی می‌باشند و سهم سلولهای هرمی در عصب رسانی به MS/DBB کم می‌باشد. ۹۴ درصد آورانه‌ها از تشکیلات هیپوکامپ به سپتوم میانی گابارژیک بوده و عمدتاً بر سلولهای گابارژیک حاوی پاروالومین در سپتوم میانی، ختم می‌شوند و تعداد کمی هم با نورونهای کولترژیک در این ناحیه سیناپس می‌دهند (۲۷). هر دو نورونهای کولترژیک و گابارژیک در سپتوم میانی، تشکیل مدار سبتو هیپوکامپ را می‌دهند. وجود این مدار برای انجام وظایفی که نیاز به حافظه کاری غیرفضایی و خاطره فضایی دارد ضروری می‌باشد و آسیب‌های دائمی سپتوم میانی در این وظایف اختلال بوجود می‌آورد که همراه با حذف ریتم  $\theta$  هیپوکامپی می‌باشد (۱۱، ۱۲). بنابراین آورانه‌ها از تشکیلات هیپوکامپ به سپتوم میانی حلقه ارتباطی سبتوم میانی - هیپوکامپ - سبتوم میانی را کامل می‌نمایند و می‌توانند تنها نقش فیدبکی و تعدیل کننده برای این مدار را ایفا نمایند.

مطالب ارائه شده در این تحقیق نشان دهنده یک الگوی عصب رسانی یکسان از طرف تشکیلات هیپوکامپ به سبتوم میانی و جانبی می‌باشند. بررسی کمی این آورانه‌ها و مشاهده توزیع دقیق سلولهای منشأ این آورانه‌ها نشان می‌دهد که آورانه‌ها به سبتوم جانبی وسیع، همه جانبه و مترکم بوده در حالی که آورانه‌ها به سبتوم میانی بسیار کم تعدادتر می‌باشند و از نواحی محدودتری منشأ می‌گیرند. تشکیلات هیپوکامپ از طریق ارتباط آورانی با ناحیه سبتال یک هدف اصلی و یک هدف فرعی را تأمین می‌نمایند. ابتدا از طریق ارتباط وسیع با سبتوم جانبی مراکز هیپوتالاموس و ساقه مغز را تحت کنترل نواحی بالاتر تالانسفالیک درآورده و سپس از طریق سبتوم میانی عمل مدار سبتو هیپوکامپ در حافظه و یادگیری را تنظیم و تعدیل می‌نماید.

تراکم ردیاب را دارا بودند و بطرف بخش‌های شکمی تراز تراکم ردیاب به میزان زیادی کاسته می‌شد. این مطلب علاوه بر توضیح ناحیه‌ای از تشکیلات هیپوکامپ که بیشترین سلول نشاندار را شامل می‌شد، تعداد کم سلولهای نشاندار در بخش‌های شکمی CA1 و ساییکولوم و همچنین CA2 را در هیپوکامپ خلفی (قطب تمپورال) توجیه می‌نماید. Cowan و Swanson محل ختم پروژکت‌ها از CA1 و ساییکولوم را در نواحی یکسان از LS گزارش می‌کنند. منابع دیگر (۱) محل ختم آورانه‌ها از CA1 و ساییکولوم را به تمامی بخش‌های LS در طول محور سری - دمی ذکر می‌کنند که موافق با نتایج حاصل از این تحقیق می‌باشد. آورانه‌ها از تشکیلات هیپوکامپ به سبتوم جانبی گلو تامانژیک می‌باشند و بر روی نورون‌هایی به نام نورونهای سوماتواسپانی ختم می‌شوند (۱، ۱۱، ۲۵). این سلولها منشأ اصلی و ابرانها از LS به نواحی آمیگدال، دیانسفال و ساقه مغز را تشکیل می‌دهند (۲۶، ۲۷). این نورونها حاوی گابا بوده و پایانه‌های حاوی گابا از آنها در نواحی هیپوتالاموس جانبی و قدامی مشاهده شده است که می‌تواند نشان دهنده طبیعت مهارکننده این پروژکت‌ها باشد. از طریق این پروژکت‌ها و تعدیل عملکرد نواحی مختلف مغز بویژه دیانسفال، LS نقشی مهمی در رفتارهای انگیزی، تهاجمی و دیگر رفتارهای مرتبط جنسی و اجتماعی ایفا می‌نماید (۱). در این میان، تشکیلات هیپوکامپ بعنوان یک مرکز تالانسفالیک با حجم بالای ارتباطات آورانی می‌تواند از طریق LS کنترل مراکز سطح بالای مغزی را بر عملکرد نواحی اتونوم و کنترل کننده رفتار مغزی اعمال نماید. حجم زیاد آورانه‌ها از تشکیلات هیپوکامپ به LS و محل ختم آنها نشاندهنده یک عمل کنترلی گسترده این تشکیلات از طریق رله توسط LS بر روی نواحی دیانسفالیک و ساقه مغز که و ابرانهای فراوانی را از سبتوم دریافت می‌دارند می‌باشد.

متعاقب تزریق ردیاب به سبتوم میانی سلولهای نشاندار شده بطور یکطرفه، در قسمت پشتی CA1 و ساییکولوم در بخش خلفی تشکیلات هیپوکامپ مشاهده شدند. همچنین تعداد بسیار کمی سلول در CA2 طرف تزریق مشاهده گردید و هیچ سلول نشاندار در ناحیه CA3 مشاهده نشد. نحوه توزیع سلولهای نشاندار در تشکیلات هیپوکامپ در این نمونه‌ها، با استثناء دو مورد اختلاف، مشابه نمونه‌ها با تزریق ردیاب در LS بود. ۱- در بخش خلفی تشکیلات هیپوکامپ سلولهای نشاندار پس از تزریق ردیاب به سبتوم میانی عموماً در بخش پشتی CA1 و ساییکولوم قرار داشتند و بخش شکمی این نواحی فاقد سلولهای نشاندار

## References

1. Paxinos G: The rat nervous system. Acaemic Press, 2ed, 1994, pp 353-368
2. Kohler C, Chan-palay V, Steinbusch H: The distribution and origin of serotonin-containing fibers in the septal area: a combined immunohistochemical and fluorescent retrograde tracing study in the rat. J Comp Neural 1982; 209: 91-111
3. Lindvall O, Stenevi U: Dopamine and noradrenaline neurons projecting to the septal area in the rat. Cell Tiss Tes 1978; 190: 383-407
4. Segal M, Landis SC: Afferents to the septal area of the rat studied with the method of retrograde axonal transport of horseradish peroxidase. Brain Res 1974; 82: 23-268
5. Staiger JF, Nurnberger F: Pattern of afferents to the lateral septum in the guinea pig. Cell-Tissue-Res 1989;

257(3): 471-490

6. Swanson LW, Cowan WM: The connections of the septal region in the rat. *J Comp Neurol* 1979; 186: 621-656
7. Alonso, Kohler CA: Study of the reciprocal connections between the septum and the entorhinal area using anterograde and retrograde axonal transport methods in the rat brain. *J Comp Neurol* 1984; 225: 327-343
8. Ino T, Yasui Y, Itoh K, Nomura S, Akiguchi T, Kameyama M, Mizuno N: Direct projections from ammon's horn to the septum in the cat. *Exp Brain Res* 1987; 68: 179-188
9. Jakab RL, Leranath C: Synaptology and origin of somatostatin fibers in the rat lateral septal are: convergent somatostatinergic and hippocampal inputs of somatospiny neurons. *Brain Res* 1991; 565: 123-134
10. Leranath C, Frotscher M: Organization of the septal region in the rat brain: cholinergic-GABAergic interconnections and the termination of hippocampo-septal fibers. *J Comp Neurol* 1989; 289: 304-314
11. Givens BS, Olten DS: Cholinergic and GABAergic modulation of medial septal area: effect on working mempry. *Behav Neurosci* 1990; 104(6): 849-855
12. Gorman LK, Pang K, Frick KM, Givens B, Olten DS: Acetylcholine release in the hippocampus: effects of cholinergic and GABAergic compounds in the medial septal area. *Neurosci Lett* 1994; 166(2): 109-202
13. Amaral DG, Kurz J: An analysis of the origins of the cholinergic and noncholinergic septal projections to the hippocampal formation of the rat. *J Camp Neurol* 1965; 240: 37-59
14. Crutcher KA, Madison R, Davis JN: A study of the rat septohippocampal pathway using anterograde transport of horseradish peroxidase. *Neurosci* 1981; 6(10): 1961-1973
15. Garris DR: Direct septo-hypothalamic projections in the rat. *Neurosci Lett* 1979; 13: 83-90
16. Givens BS, Olten DS, Crawley JN: Galanin in the medial septal area impairs working memory. *Brain Res* 1992; 582: 71-77
17. Lamour Y, Dutar PA, Septo-hippocampal and other medial septum-diagonal band neurons:

electrophysiological and pharmacological properties.

- Brain Res* 1984; 309: 227-239
18. Mizumori SJY, Ward KE, Lavoie AM: Medial septal modulation of entorhinal single unit activity in anesthetized and freely moving rats. *Brain Res* 1992; 570: 188-197
19. Pang K, Williams MJ, Olten DS: Activation of the medial septal area attenuates LTP of the lateral perforant path and enhances heterosynaptic LTD of the medial perforant path in ages rats. *Brain Res* 1993; 632: 150-160
20. Rashidy-Pour A, Motaghed-Iarjani Z, Bures J: Reversible inactivation of the medial septal area impairs consolidation but nor retrieval of passive avoidance learning in rats. *Behav Brain Res* 1996; 72: 185-188
21. Vinogradova OS, Brazhnik ES, Staekhina VS, Kichigina VF: Modulation of septal influences on hippocampal neurons by cholinergic substances. *Neurosci. Behav Physiol* 1995; 25(6): 453-461
22. Gaykema RPA., Van der Kuil J, Hersh LB, Luiten PGM: Patterns of direct projections from the hippocampus to the medial septum-diagonal band complex: anterograde tracing with PHASEOULUS VULGARIS LEUCOAGGLUTININ combined with immunohistochemistry of choline acetyltransferase. *J Neurosci* 1991; 43(2/3): 349-360
23. Paxinos G, Watson C: The rat brain in stereotaxic coordinates. Academic Press, second Edition 1986
24. Mesulam MM: Tracing neural connections with horseradish peroxidase. Wiley A. Interscience publication 1982
25. Jakab RL, Leranath C: Catecholaminergic, GABAergic, and hippocamposeptal innervation of GABAergic "somatospiny" neurons in the rat lateral septal area. *J Comp Neurol* 1990; 302: 305-321
26. Varoqueaux F, Leranath C: Hypothalamo-septal enkephalinergic fibers terminate on AMPA receptor-containing neurons in the rat lateral septal ara. *Synapse* 1997; 25(3): 263-271
27. Toth K, Borhegyi ZTF: Postsynaptic targets of GABAergic hippocampal neurons in the medial septum-diagonal band of Broca complex. *J Neurosci* 1993; 13(9): 3712-3724

