فصلنامه یافته‌های زیست‌شناسی
جلد 7، شماره 4

اثر تزریق داخل هیپوکامپی آگونیست گرلین بر حافظه اجتنابی غیرفعال در رتهای ماده اوارکتومی شده

فروغ کجباف[1]، رامش احمدی *[2]، سیدرضا فاطمی طباطبایی[3]، الهام صفرپور [2]

تاریخ دریافت: 90/5/5 تاریخ پذیرش: 90/9/26

چکیده

هیپوکامپ، آمیگدالا و هسته رافه پشتی، مناطق اصلی مغز هستند که در مکانیسم‌های حافظه درگیر می‌شوند. شواهد نشان می‌دهد که گرلین غلظت‌های هورمونی را در هیپوکامپ، آمیگدالا و هسته رافه پشتی افزایش می‌دهد و با یک مکانیسم وابسته به دوز افزایش حافظه را در هیپوکامپ باعث می‌شود. باتوجه به فقدان و یا کمبود مطالعه در زمینه تأثیر گرلین روی حافظه در کشورمان، هدف از این مطالعه بررسی اثرآگونیست گرلین داخل هیپوکامپی در حضور عملکرد هورمون‌های جنسی تخمدان در بهبودی حافظه اجتنابی غیر فعال می‌باشد. در این مطالعه 5 گروه موش صحرایی ماده شامل گروه کنترل بدون هیچ نوع تزریق، گروه اوارکتومی شده با تزریق گرلین، گروه اوارکتومی شده با تزریق سالین، گروه شوک جراحی دیده با تزریق گرلین و گروه شوک جراحی دیده با تزریق سالین استفاده شدند. با استفاده از دستگاه استریوتاکس و کانول گذاری دو طرفهٔ CA1 هیپوکامپ یک میکرولیتر از دارو با غلظت 3nmol/µl در هر کانول تزریق شد. بررسی حافظه در دستگاه شاتل باکس انجام شد. مدت زمان تاخیر در ورود به جعبهٔ تاریک به عنوان شاخص حافظه در نظر گرفته می‌شود. در مقایسه با گروه کنترل و در بررسی مدت زمان تاخیر در ورود به جعبه تاریک 24 ساعت پس از تزریق دارو آنالیزها نشان از عدم اثرافزایشی روی حافظه داشت. عدم تاثیر گذاری آگونیست گرلین احتمالا" به عواملی از قبیل اختلاف دوز مورد استفاده، قدرت اتصالی آگونیست گرلین به گیرنده‌ها و یا عمر بقای اثر گذاری دارو درمغز بستگی دارد.

کلمات کلیدی: آگونیست گرلین، هیپوکامپ، حافظه، رت

1. دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم
*2. عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم
3. عضو هیات علمی دانشگاه شهید چمران اهواز

ramahmd@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

حافظه اجتنابی غیر فعال حالتی را نشان می‌دهد که در آن حیوان می‌آموزد برای تنبیه نشدن بعضی رفتارها را انجام ندهد. به زبان دیگر، توانایی حفظ و نگهدای اطلاعات فراگیری شده و بخاطر آوردن آنها می‌باشد. (1).

هیپوکامپ از ساختمانهای اصلی دخیل در حافظه می‌باشد. ترکیبات استروژنی اثرات چشمگیری برعملکرد وساختمان هیپوکامپ دارند. بطوریکه فقدان ترکیبات استروژنی منجر به کاهش دانسیته خارهای دندریتی در ناحیه CA1 هیپوکامپ می‌شود. بررسی‌های متعددی نشان داده است که گناداکتومی رتهای نر وماده موجب تغییر روندهای مربوط به حافظه می گردد(2).

گرلین برای اولین بار در سال 1999 توسط یک محقق ژاپنی به نام کوجی ما و همکارانش (3) به جهان پپتیدها معرفی شد. این پپتید برای اولین بار از معده موش صحرایی جداسازی شد و به عنوان لیگاند درونی برای گیرنده هورمون محرک رشد GHSR- 1a [1] مطرح گردید (3). میزان گرلین در پلاسمای خون قبل از خوردن غذا افزایش یافته و به هنگام گرسنگی ترشح آن تحریک و تقویت می‌شود. منبع اصلی این پپتید اشتهاآور، معده است و بیش از 70 درصد گرلین موجود در گردش خون از این منبع تأمین می‌شود (4).

بنکس و همکاران در زمینهٔ عبورگرلین از خون به مغز و مغز به خون به دو صورت تزریق درون رگی وداخل بطن مغزی، روی فرمهای آسیله و دآسیله پپتید گرلین رادیواکتیو تحقیقی در موش به عمل آوردند. نتایج نشان داد که گرلین موش اکتانوئیده به راحتی از سد خونی مغزی عبور می کند البته فقط در مسیر مغز به خون و به کمک سیستمی از حامل‌های اشباع شدنی این توانایی را دارد، اگر چه گرلین دآسیله شده نقشی کاملاً مخالف در مقابله با مکانیسم غیر قابل اشباع بازی می کند(5).

هیپوکامپ، آمیگدالا و هسته رافه‌پشتی [2] مناطق اصلی مغز هستند که در مکانیسم‌های یادگیری و حافظه درگیر می‌شوند. شواهد اولیه نشان می‌دهند که گرلین ممکن است دارای نقشی در عملکردهای فراموشی باشد. با استفاده از تست رفتاری در سال 2007 توسط کارلینی و همکاران نشان‌داده شد که تزریقات درون بطن مغزی گرلین، با یک مکانیسم وابسته به دوز حفظ حافظه را در بلند مدت و کوتاه مدت افزایش می‌دهد. همچنین نشان داده شدکه اثرات گرلین روی حافظه به قابل دسترس‌بودن سروتونین [3] بستگی دارد زیرا یک مهارکننده جذب 5- HT به نام فلوکسیتین حفظ حافظه کوتاه مدت و بلند مدت راکاهش می‌دهد. این محققین نتیجه‌گیری نموده‌اند که حفظ حافظه در حضور سروتونین در ساختمانهای خارج از هیپوتالاموس مثل هیپوکامپ صورت میگیرد (6).

در مقاله‌ای مروری نشان داده‌شده‌است که استفاده از این پپتید بلافاصله بعد از دوره تمرین با افزایش در حافظهٔ بلند و کوتاه مدت همراه است. این یافته‌ها مطابقت دارند با نظریه‌ای که پیشنهاد می کند که گرلین بیشتر در مدل سازی تقویت و تثبیت حافظه و نه در اکتساب آن تأثیر گذار است(7). همچنین مشخص گردیده است که گرلین می‌تواند روی حافظه و اکتساب آن تأثیر داشته باشد اما دقیقاً روی بازیابی آن تأثیر ندارد(8).

علاوه بر این دیانو و همکارانش (2006) گزارش داده‌اند که تزریق گرلین در هیپوکامپ ایجاد سیناپس نخاعی دندانه‌ای و ایجاد حافظه دراز مدت را تسریع می کند. بعلاوه موشهای ماده بالغ از نوع mice بدون گرلین ضعف حافظه را نشان می‌دهند و تجویز گرلین این نارسایی کارکردی را برطرف می کند(9).

همچنان که مشاهده گردید اگر چه از شناسایی ملکول گرلین بیش از یک دهه می گذرد و تحقیقات وسیعی در رابطه با تاثیر این ماده روی ترشح هورمون رشد، عملکرد معده و تنظیم غذای دریافتی و تعادل انرژی و غیره صورت گرفته است لیکن تحقیقاتی که در رابطه با اثر بر یادگیری وحافظه انجام شده‌اند اندک می‌باشند بویژه اینکه در پایگاههای اطلاعاتی بین المللی هیچ گزارشی در این

1. Growth hormone secretagogues receptor
2. DRN
3. 5-HT

Archive of SID

www.SID.ir

موارد تا زمان شروع به کار این پروژه از کشورمان ثبت نگردیده است لذا بر آن شدیم تا با تزریق داخل هیپو کامپی آگونیست گرلین در موشهای صحرایی مادهٔ اوارکتومی‌شده اثر این ماده را بر حافظه اجتنابی غیر فعال و همچنین احتمال اثر سینرژیک این هورمون و هورمون‌های تخمدانی را به صورت همزمان تحقیق نماییم باشد که بتوانیم قدمی کوچک در راه اصلاح و بهبود رفتاری حیوانات و احتمالاً در انسان برداریم.

مواد و روش‌ها

حیوانات مورد آزمایش: در این تحقیق از تعداد50 سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار تهیه‌شده از مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه جندی شاپور اهواز به وزن تقریبی 180-220 گرم استفاده شد. موشها در 5 گروه 10 تایی دسته‌بندی شدند. محل نگهداری حیوانات دارای دوره روشنائی - تاریکی 12 ساعته و دمای23±3 درجه سانتی گراد بود .آب و غذا به مقدار کافی در اختیار حیوانات قرار داده شد.

در این مطالعه از GHRP-2 به عنوان آگونیست گرلین برای گیرندهٔ نوع CA1 در هیپوکامپ به شرح زیر استفاده شد:

1-گروه سالم: به عنوان گروه کنترل

2-گروه اوارکتومی شده: که به عنوان گروه اصلی 1µl از آگونیست گرلین با غلظت 3nmol/µl را به صورت جداگانه در هر یک از کانول‌های دو طرفه دریافت کردند.(ovg)

3-گروه اوارکتومی شده: که به عنوان گروه شاهد 1µl از حلال سالین را را به صورت جداگانه در هر یک از کانول‌های دو طرفه دریافت کردند.(ovs).

4-گروه شوک جراحی داده شده: که به عنوان گروه اصلی 1µl از آگونیست گرلین با غلظت 3nmol/µl را به صورت جداگانه در هر یک از کانول‌های دو طرفه دریافت کردند.(shg)

5-گروه شوک جراحی داده شده: که به عنوان گروه شاهد 1µl از حلال سالین را را به صورت جداگانه در هر یک از کانول‌های دو طرفه دریافت کردند.(shs).

(منظور از شوک جراحی کلیهٔ اعمالی است که مشابه با گروه اوارکتومی انجام شده با این تفاوت که تخمدان‌ها دست نخورده و به حالت طبیعی باقی می‌ماند.)

دارو: دارو از شرکت تولیدی LKT در آمریکا و با نام علمیGHRP-2 (آگونیست گرلین) خریداری شد و به صورت پودر سفید و منجمدی است که قابل حل در سالین می‌باشد. دارو یک فاکتور مستقل می‌باشد که واحد آن یک میکرولیتر به ازای هر کانول موش صحرایی بود (µl/rat).

جراحی اوارکتومی: حیوانات توسط تزریق درون صفاقی محلول کتامین سولفات به میزان 50mg/kg و زایلازین به میزان 4mg/kg بیهوش شدند. شکافی در سطح پشتی - جانبی از مهره 2 تا 5 کمری یا به سمت میانه شکم توسط تیغ اسکالپل داده شد. بعد از شکافتن پوست و عضلات شکم لوله‌های اویداکت به همراه رگ‌های خونی بسته شده و تخمدان‌ها به صورت دو طرفه برداشته شدند. جهت جلوگیری از ایجاد عفونت در طول دوره جراحی درجه بالایی از مواد ضد عفونی‌کننده مورد استفاده قرار گرفت و به هر موش پنی سیلین6.3.3 IM, 20/000 IU, 0/2 ml تزریق شد. موش‌های جراحی شده پس از گذشت 7 روز دوره بهبودی تحت جراحی بعد قرار گرفتند. (10)

روش‌های استریوتاکسیک[1] : برای کانول گذاری از دستگاه استریوتاکس ساخت شرکت استولتینگ[2] آمریکا استفاده گردید حیوانات توسط تزریق درون صفاقی محلول کتامین سولفات به میزان 50mg/kg و زایلازین به میزان 4mg/kg بیهوش شدند. ابتدا حیوان در دستگاه ثابت شد. سپس ناحیه مورد نظر علامت گذاری شد. مختصات ناحیه CA1 هیپوکامپ مورداستفاده عبارت بودند از:

از برگما AP = -3.3 mm، از خط وسط 1.8mmج ML ±= از سطح جمجمه DV = -2.5 mm در موارد لزوم

1 Stereotaxic Methods
2 Stoelting

Archive of SID

www.SID.ir

ضریب تصحیح به کار برده شده بود. (11) بعد از علامت گذاری مختصات محل مورد نظر با مته سوراخ شد، سپس کانول‌ها به وسیله دستگاه استریو تاکس تا یک میلی متر کمتر از عمق مناطق موردنظر پایین برده شد. کانول‌های بریده شده به طول 1 سانتیمتر از سر سوزن شماره 22، تهیه شده بودند. در نهایت به منظور جلوگیری از انسداد کانول در درون آن سیم نازک مفتولی قرار گرفت. و حیوان پس از بهوش آمدن به قفس انفرادی منتقل گشت. بعد از طی دوره بهبودی به مدت 8 روز آموزش آغاز شد (12).

تزریق دارو: در این مرحله دارو در یک لوله پلی اتیلنی ریخته شد. این لوله از یک طرف به سرنگ هامیلتون و از طرف دیگر به سر سوزن شماره 27 که طول آن حدود 1 میلیمتر بلندتر از کانول می‌باشد، متصل شد. سر سوزن درون کانول قرار داده شد. سرنگ تزریق یک میلیمتر بلندتر از کانولها تهیه گردید تا آسیب کمتری حاصل گردد. در نهایت تزریقات به صورت داخل هیپوکامپی انجام و به آرامی و در مدت 1 دقیقه در هر کانول صورت گرفت.(13)

بررسی صحت محل کانول گذاری: مقدار 0/5 میکرولیتر ماده رنگی متیلن بلو از طریق کانول راهنما به داخل ناحیه هیپوکامپ CA1 تزریق شد. مغز به مدت یک هفته در فرمالین 10 درصد نگهداری شد. سپس برش مغز با اطلس Paxinos مقایسه گردید.(13).

دستگاه شاتل باکس و حافظه اجتنابی غیرفعال: برای تحقیق در مورد تشکیل حافظه اجتنابی غیرفعال در موش‌های صحرایی از دستگاه شاتل باکس[1] استفاده شد. این دستگاه از دو اتاقک مجزا تشکیل شده است که توسط یک درب گیوتینی به ابعاد 8×8 سانتی متر از هم جدا شده است. در کف هر کدام از این دو اتاقک میله‌هایی به قطر 3mm با فاصله 1 cm از هم قرار گرفته اند. ابعاد هر اتاقک 20 cm×21×30 بوده و در بالای محفظه روشن یک لامپ 12 ولت 10 وات قرار گرفته است.(14)

در مرحله عادت کردن موش‌ها با فاصله 30 دقیقه دو بار در دستگاه قرار گرفتند. برای آموزش ابتدا موش صحرایی در قسمت روشن دستگاه قرار گرفته و 10 ثانیه بعد درب گیوتینی بالا کشیده شد. زمان وارد شدن حیوان به محفظه تاریک ثبت گردید[2]. پس از ورود حیوان، درب بسته شده و جریان الکتریکی با شدت 1 میلی آمپر و فرکانس 50 هرتز به مدت 2 ثانیه از پاهای حیوان عبور داده شد(15). بلافاصله پس از اعمال شوک، موش از محفظه تاریک برداشته شده و در قفس انفرادی خود قرار گرفت. بعد از 120 ثانیه موش مجددا در قسمت روشن قرار گرفته و 10 ثانیه بعد درب گیوتینی بالا کشیده شد، در صورتی که در طول مدت 120 ثانیه موش وارد محفظه تاریک نمی شد آزمایش متوقف شده و موش به قفس انفرادی خود انتقال داده می‌شد. در صورت وارد شدن موش‌ها به محفظه تاریک دوباره شوک دریافت می کردند و بعد از سه بار تکرار آزمایش اگر موش قادر به فراگیری وظیفه نمی شد، از دور آزمایشات حذف می‌شد. لازم به ذکر است حیواناتی که در آن‌ها طول مدت تأخیر اولیه از 120 ثانیه تجاوز می کرد از دور آزمایشات حذف می‌شدند. پارامترهایی که در این مطالعه جهت بررسی حافظه اجتنابی غیرفعال مورد ارزیابی قرار گرفتند عبارتند از:

1- میزان تأخیر اولیه[3]

2- میزان تأخیردر زمان تست[4] (14)

متغیرها و آنالیز آماری: در تست حافظه متغیر ما زمان بر حسب ثانیه بود.ماکزیمم زمانی برای هر موش در تاخیر ورودبه جعبهٔ تاریک 300 ثانیه می‌باشد که نشان از حافظهٔ کامل دارد. محاسبات به روش آنالیز واریانس یک طرفه با استفاده از نرم‌افزار SPSS (شیکاگو، ایلینویز، آمریکا) صورت گرفت. در صورت وجود یک F معنی‌دار، آنالیز به کمک Post hoc Tukey ادامه یافت. از لحاظ آماری P

1 Shuttle box

2 Initial Latency
3 Initial Latency
4 Latency Step Through

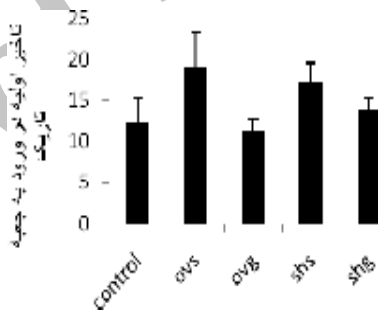
Archive of SID

www.SID.ir

کمتر از 0/05 معنی‌دار فرض شد. درنهایت آزمون تی تست[1] در بررسی گروه‌های دوگانه استفاده شد.

نتایج

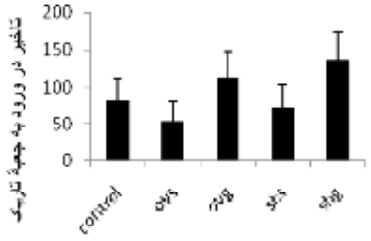
نتایج نشان داد در بررسی اثر تزریق داخل هیپوکامپی گرلین بر حافظه در مقایسه تاخیر در ورود به جعبه تاریک 48 ساعت پس از آموزش برای گروه‌های پنج گانه و با انجام آنالیزهای آماری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. در ابتدا و پیش از آموزش مدت زمان تاخیر در ورود به جعبه تاریک برای گروه‌های پنج‌گانه ثبت‌شد. همان گونه که در شکل (1) مشاهده می‌شود اختلاف بین گروه کنترل و 4 گروه دیگر معنی‌دار نیست و این به آن معناست که موشها از نظر میزان یادگیری در یک سطح می‌باشند.



گروه آزمایشی

شکل 1: مقایسه تاخیر در ورود به جعبه تاریک پیش از آموزش برای گروه‌های پنج گانه: آزمون آنالیز واریانس یکطرفه انجام گرفت.مشاهده گردید که آزمون با توجه به P<0/05 معنی دار نیست. نتایج آزمون توکی نیز نشان میدهد که اختلاف بین گروه کنترل و 4 گروه دیگرمعنی‌دار نمی باشد.

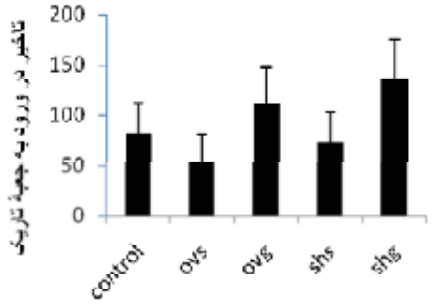
پس از اطمینان از وضعیت هماهنگ حیوانات 24 ساعت پس از آموزش تزریق دارو صورت گرفت و بعد از 24ساعت از تزریق دارو تست حافظه انجام شد.همان گونه که در شکل 2 نشان داده شده است، تزریق داخل هیپوکامپی گرلین جهت بررسی اثر بر حافظه با مقایسه تاخیر در ورود به جعبه تاریک 48 ساعت پس از آموزش برای گروه‌های پنج گانه صورت گرفت. با توجه به P<0/05 تزریق داخل هیپوکامپی گرلین بر حافظه اثر ندارد. (F= 1/019)، (Sig= 0/408)



گروه آزمایشی

شکل 2: بررسی اثر تزریق داخل هیپوکامپی گرلین در مقایسه با تاخیر در ورود به جعبه تاریک 48 ساعت پس از آموزش.

سپس آنالیزهای تکمیلی انجام شد بدین صورت که در بررسی مقایسه‌ای گروه کنترل با گروه‌های دیگر از آزمون T-Test کمک گرفته‌شد که نتایج نشان‌داد (شکل 3) تزریق داخل هیپوکامپی گرلین بر حافظه در مقایسه با تاخیر در ورود به جعبه تاریک 48 ساعت پس از آموزش اختلاف معنی‌داری با توجه به P<0/05 نشان نمی دهد. در نتیجه تزریق داخل هیپوکامپی گرلین بر حافظه اثر ندارد. T-Test Sig برای (control=_____)، (ovs=0/492)، (ovg=0/521)، (shs=0/831)، (ج shg 0/281 =) می‌باشد.



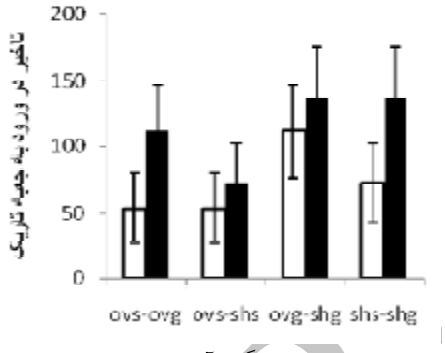
گروه آزمایشی

شکل 3: بررسی تزریق داخل هیپوکامپی گرلین بر حافظه در مقایسه با تاخیر در ورود به جعبه تاریک 48 ساعت پس از آموزش با انجام تستهای تکمیلی در مرحلهٔ بعدی در بررسی اثر تزریق داخل هیپوکامپی گرلین بر حافظه در مقایسه بین زوجهای (Ovs و Ovg)، (Ovs و Shs)، (Ovg و Shg)، (Shs و Shg) نیز آزمون T-Test انجام شد.(شکل 4) نتایج بیانگر آن است که هیچ یک از

1 T-test

www.SID.ir

آزمون‌ها بین زوج‌ها معنی‌دار نیست. لذا مجدداً" نتیجه گرفته می‌شود که تزریق داخل هیپوکامپی گرلین بر حافظه اثر ندارد.



شکل 4: بررسی اثر تزریق داخل هیپوکامپی گرلین بر حافظه در مقایسه بین زوج‌های (Ovs و Ovg)، (Ovs و Shs)، (Ovg و Shg)، (Shs و Shg)

بنابراین در مجموع عدم اثرگذاری دارو روی حافظهٔ موش‌ها 24 ساعت بعد ازتزریق دارو به اثبات رسید.

بحث و نتیجه‌گیری

در این تحقیق و در بررسی اثر تزریق داخل هیپوکامپی گرلین بر حافظه در مقایسه تاخیر در ورود به جعبه تاریک 48 ساعت پس از آموزش برای گروه‌های پنج گانه و با انجام آنالیزهای تکمیلی مشخص شد که آگونیست گرلین در حضور و عدم حضور هورمون‌های تخمدان اثری بر حافظه ندارد.

در مطالعاتی که در نقاط مختلف دنیا توسط محققین صورت گرفته است نظرات مختلفی در این زمینه گزارش شده است. مثلا"در سال 2002 کارلینی که پایه گذار بحث ارتباطی ما بین پپتید گرلین وحافظه میباشد نشان داد که گرلین خوگیری، حرکت و یا رفتارهای نمایشی رادر پایین ترین دوز تغییر می‌دهد .(16) در حالی که برخلاف آن در سال 2004 او نشان داد که گرلین در هسته ی پشتی رافه و هیپوکامپ باعث افزایش در جذب غذا و بقاء حافظه گردیده و عامل افزایش حافظه در بالاترین دوزهای آن می‌باشد(17).

در سال 2010 کارلینی در بررسی تأثیرات افتراقی گرلین روی فراگیری و بازیابی حافظه نشان داد که تزریق داخل بطن مغزی گرلین افزایش در حافظهٔ بلند و کوتاه مدت را القاء می‌کند. این مطالعات نشان داد که آمیگدال نقش ویژه‌ای در تملک حافظه دارد ولی در تثبیت حافظه نقشی ندارد. بر این اساس گرلین بصورت یک واسطه ملکولی ویژه که در فرآیند فراگیری و تثبیت دخالت دارد عمل می‌کند اما در آنهایی که مربوط به بازیابی‌اند دخالتی ندارد (8). بعلاوه به خوبی دانسته شده که تزریق داخل بطن مغزی گرلین باعث درگیرشدن جمعیت بالایی از گیرنده‌های GHS می‌شود در صورتیکه عملکرد مستقیم گرلین در اشکال مختلف تنها روی گیرنده‌های حاضر در آن ناحیه تأثیر می‌گذارد. همچنین مشخص گردیده است که فعال شدن سیستم سنتز نیتریک اکساید در هیپوکامپ در ارتباط با اثر گرلین روی تثبیت حافظه می‌باشد(18) بدین ترتیب گرچه هیپوکامپ ساختمانی است که بیشترین اثر را در ارتقاء حافظه تحت تأثیر گرلین دارد و دوزهای مختلف گرلین باعث القاء افزایش قابل قبول آن می‌شود ولی در مطالعه‌ای نتیجه‌گیری گردیده است که از آنجایی که هیپوکامپ در رفتارهای وابسته به غذا تاثیر فراوان دارد احتمالاً نقش آن در رابطه با فرآیندهای حافظه و یادگیری تحت تاثیر این موضوع می‌باشد(19).

در تحقیق حاضر بهتر دیدیم که مکان تزریق دقیقاً روی نقطهٔ مورد نظر یعنی CA1 هیپوکامپ که محل تخصصی حافظه و یادگیری است در نظر گرفته شود و در بالاترین دوز با فرض اثر اختصاصی آن در ترشح هورمون رشد و مرور اطلاعات حافظه درباره ی تجربه غذا، در هر کانول جداگانه از بالاترین دوز موثر استفاده نمودیم تا اثر آن را بر یادگیری و حافظه بسنجیم. اما نتایج نشان از عدم اثر گذاری دارو روی حافظهٔ موشها 24 ساعت بعد ازتزریق دارو داشت. این امر می‌توانست بیان کنندهٔ این مساله باشد که اثر دارو 24 ساعت بعد از تزریق از بین می‌رفت. آگونیست گرلین گرچه از نظر فارماکولوژی شبیه گرلین است لیکن نیمه عمر کوتاهی دارد و اثر آن حدود 15 دقیقه بعد از تزریق به حد ماکزیمم می‌رسد و بعد از یکساعت کاملا از بین میرود(20). این امر میتواند

Archive of SID

www.SID.ir

توجیه‌کننده عدم اثرگذاری این ماده 24 ساعت بعد از تزریق باشد.

شایان ذکر است که تنها مقالهٔ موجود که در آن روی موش ماده کار شده‌بود در سال 2008 مجدداً توسط کارلینی و همکارانش در گروهی از موشهای بالغ از نوع mice بود، که بعد از مدت 28 روز محدودیت غذایی مزمن بصورت پنجاه در صد محدودیت، تزریق گرلین را انجام دادند. تزریق به صورت داخل بطن مغزی و در دوزهای3، 0/3 و0/03 نانومول در میکرولیتر به هر موش بود. این مطالعه اولین گزارشی بود که پیشنهاد کرد گرلین اثرات مخرب سوء تغذیه مزمن بر حافظه را معکوس می‌کند. (21). همچنین باید خاطر نشان ساخت که تحقیقات روی موش صحرائی ratماده دررابطه با گرلین و حافظه تازمان شروع این تحقیق نادر بود گرچه در رابطه با اثرکلسیم و یا اوارکتومی بر حافظه این حیوانات تحقیقاتی صورت گرفته بود (22).

در تحقیق حاضر و به منظور بررسیهای بیشتر اثر سینرژیک هورمون‌های جنسی بر حافظه از گروه‌های موشهای اوارکتومی شده وهمچنین موشهایی دارای تخمدان استفاده کردیم زیرا بر اساس منابع موجود در مورد تاثیرتخمدان زدایی و استروژن درمانی بر روندهای شناختی اختلاف نظر وجود دارد بطوریکه گزارش‌ها حاکی ازعدم تاثیر این هورمون در روندهای شناختی، اثرات دوجانبه و یا اثرات بهبوددهنده می‌باشد (23). احتمالا تناقض موجود در این نتایج ناشی از رژیم‌های درمانی متفاوت، دوزهای مختلف هورمون و یا طریقه تجویز بوده است.

با توجه به اینکه نواحی مختلف سیستم عصبی در روند یادگیری وتشکیل حافظه به یک اندازه نقش نداشته وبر حسب میزان پراکندگی گیرنده‌ها حساسیت متفاوت به استروژن وجود دارد لذا در مورد اثرات هورمون‌های تخمدانی استروژن وپروژسترون بر روی حافظه و یادگیری در موش‌های بالغ این نتایج متناقض توجیه پذیر هستند..

بدین ترتیب عدم تاثیر گذاری آگونیست گرلین بر حافظه را در تحقیق حاضر می‌توان به عواملی از قبیل نیمه عمر دارو، دوز مورد استفاده و قدرت اتصال به گیرنده‌ها در مقایسه با خود گرلین نسبت داد.

تشکر و سپاسگزاری

از جناب آقای دکتر مسعود قربان پور ریاست محترم دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز و سرکار خانم المیرا بیرامی دانشجوی فوق لیسانس فیزیولوژی جانوری از دانشگاه تربیت معلم تهران تشکر و قدردانی می‌نمایم.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

12. عصائی راحله، بررسی اثر تجویز داخل هیپوکامپ آلومینیم بر یادگیری اجتنابی فعال در موش سفید آزمایشگاهی. تیرماه 1377. دانشگاه علوم پزشکی اهواز.

13. وفایی، عباسعلی و میلادی گرجی، حسیسن. اثر تزریق سیستماتیک وازوپرسین بر تعدیل واکنش‌های اضطراب در موش صحریی، مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گیلان، 14: (53)، (1384) صفحات 20-14.

14. Babri Sh., Gholamipour Badie H., Khameneh S., Ordikhani Seydlar M., Ebrahimi H. Comparison of intrahippocampal insulin injection on memory consolidation in normal and diabetic male rats. *Pharmaceutical Sciences*,.2007; 11: 58-59

15. Angeloni SV., Glynn N., Ambrosini G., Garant MJ., Higley JD., Suomi S. and Hansen B.C. Characterization of the rhesus monkey ghrelin gene and factors influencing ghrelin gene expression and fasting plasma levels *Endocrinology*. 2004; 145(5): 2197-205

16. Carlini VP, Monzon ME, Varas MM, Cragnolini AB, Schioth HB, Scimonelli TN, et al. Ghrelin increases anxiety-like behavior and memory retention in rats. *Biochem Biophys Res Commun*.2002; 299: 739–40

17. Carlini VP, Varas MM, Cragnolini AB, Schiöth HB, Scimonelli TN, de Barioglio SR. Differential role of the hippocampus, amygdala, and dorsal raphe nucleus in regulating feeding, memory, and anxiety-like behavioral responses to ghrelin. *Biochem Biophys Res Commun*.2004; 313(3): 635-41.

18. Carlini Valeria P, Perez Mariela F و Salde Estela , Schioth Helgi B,Ramirez Oscar A , de Barioglio Susana R. Ghrelin induced memory facilitation implicates nitric oxide synthase activation and decrease in the threshold to promote LTP in hippocampal dentate gyrus. *Physiology & Behavior*.2010; 101: 117–123

19. Tracy A L, Jarrard L E, Davidson T.L. The hippocampus and motivation revisited: appetite and activity, *Behav. Brain Res*.2001; 127: 13–23.

20. Furuta S., Shimada O., Doi N., Ukai K., Nakagawa Watanabe J., Imaizumi M: General Pharmacology of KP-102 (GHRP-2), a potent growth hormone-releasing peptide. *Arzneimittelforschung*.2004; 54: 868-80

21. Carlini VP, Martini AC, Schiöth HB, Ruiz RD, Fiol de Cuneo M, de Barioglio SR. Decreased memory for novel object recognition in chronically food-restricted mice is reversed by

1. Mayford M, Bach M.E, Huang Y.Y, Wang L, Hawkins R.D, and Kandel E.R. control of memory formation through regulated expression of a CaMKII transgene. *Science*.1996;274: 1678-1683.

2. Levinoff E.L., Chertkow H. The biological and cognitive effects of estrogen on the aging brain,*Drug & Aging*.2002;5: 41-44.

3. Kojima M., Hosoda H., Matsuo H. and Kangawa K. Ghrelin discovery of the natural endogenous ligand for the growth hormone secetagogue receptor. *Trends Endocrinol Metab*. 2001; 12(3): 118-22.

4. St-Pierre DH., Wang L. and Tache Y. Ghrelin: a novel player in the gut-brain regulation of growth hormone and energy balance. *News physiol Sci*.2003; 18: 242-6.

5. Banks W A, TschoP M, Robinson S M, Heiman M L: Extent and direction of ghrelin transport across the blood-brain barrier is determined by its unique primary structure. *J of Pharm and Exp Therap*.2002;302: 822-27

6. Carlini V P, Gaydou R C, Schioth H B, de Barioglio S R: Selective serotonin reuptake inhibitor(fluoxetine) decreases the effects of ghrelin on memory retention and food intake. *Regul Pept*.2007;140: 65-73

7. Ewan McNay; Insulin and ghrelin: peripheral hormones modulating memory and hippocampal function ،*Current Opinion in Pharmacology* 2007; 7: 628–632

8. Carlini V.P., Ghersia Marisa , Schioth Helgi B, de Barioglio Susana R. Ghrelin and memory: Differential effects on acquisition and retrieval.*Peptides*.2010; 6: 1190-3

9. Diano S, Farr SA, Benoit SC, McNay EC, da Silva I, Horvath B, Gaskin FS, Nonaka N, Jaeger LB, Banks WA, Morley JE, Pinto S, Sherwin RS, Xu L, Yamada KA, SleemanMW, Tschöp MH, Horvath TL. Ghrelin controls hippocampal spine synapse density and memory performance. *Nat Neurosci*.2006;9: 381–8.

10. Saadat Parhizkar, Rashid Ibrahim and Latiffah Abdul Latiff. Incision Choice in Laparatomy: a Comparison of two incision techniques in ovariectomy of Rats., World *Applied Sciences Journal*.2008; 4: 537-540

11. معتمدی فرشته. روش‌های استریوتاکسیک. مجموعه مقالات دومین کارگاه تحقیقاتی فیزیولوژی فارماکولوژی. 17-4 آبان ماه 1371. تهران.

Archive of SID

www.SID.ir

acute ghrelin administration. *Neuroscience*.2008; 153: 929–934
22. Sato T., Teramoto T., Tanaka K., Ohnishi Y., Irifune M., Nishikawa T. Effects of ovariectomy and calcium deficiency on learning and memory of eight-arm radial maze in middle-aged female rats. *Behav Brain Res*.2003, 142: 207-16
23. Leuner B., Mendolia-Loffredo S., Shors, T. High levels of estrogen enhance associative memory formation in ovx females *Psychoneuroendocrinology*.2004;29 (7): 883–. 890

Archive of SID

www.SID.ir