Original Article

Effect of hydro-alcoholic extract of *Salvia officinalis* on memory impaired by post-training administration of morphine using a passive avoidance paradigm in rat

Alizadeh-Makondi A*, Khajeh-Pour L, Kasmati M

Department of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran Ahvaz University, Ahvaz, I. R. Iran.

Received January 11, 2011; Accepted September 18, 2011

Abstract:

Background: Studies have shown that the morphine can affect several neurotransmitter systems in the brain and impair memory retrieval. Moreover, it has been reported that the hydroalcoholic extract of *Salvia officinalis* can potentiate memory retention. Therefore, this study was conducted to evaluate the effect of hydroalcoholic extract of *salvia officinalis* on memory impaired by post-training administration of morphine using a passive avoidance paradigm in rat.

Materials and Methods: In this study, rats (220-250g) were trained in a step–through type passive avoidance task (1.5 mA shock for 3 seconds). Immediately after training, the animals received systemic injections of morphine (2.5, 5 and 7.5 mg/kg, s.c.) or *Salvia officinalis* (20, 40 and 60 mg/kg, s.c.). Another group received *Salvia officinalis* (20 mg/kg, s.c.) before training and morphine (7.5 mg/kg, s.c.) after training. All animals were tested 24 h after training to measure the step-through latency.

Results: Findings indicated that post-training subcutaneous administration of morphine (5 and 7.5 mg/kg, s.c.) and *Salvia officinalis* (40 and 60 mg/kg, s.c.) impaired and enhanced memory retrieval, respectively in animals on the test day. Moreover, a systemic injection of *Salvia officinalis* (20 mg/kg, s.c.) before training restored the memory impairment induced by post-training morphine (7.5 mg/kg, s.c.).

Conclusion: It seems that hydroalcoholic extract of *Salvia officinalis* can prevent the morphine-induced impairment of memory.

Keywords: *Salvia officinalis*, Morphine, Neurotransmitter, Rat

* **Corresponding Author.**
Email*:* aciehalizadeh@yahoo.com
Tel: 0098 916 321 5303
Fax: 0098 611 224 1744

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, Winter, 2012; Vol. 15, No 4, Pages 302-309

Please cite this article as: Alizadeh-Makondi A, Khajeh-Pour L, Kasmati M. Effect of hydro-alcoholic extract of *Salvia officinalis* on memory impaired by post-training administration of morphine using a passive avoidance paradigm in rat. ***Feyz*** 2012; 15(4): 302-9.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-10]

اثر عصاره آبی‌الکلی سالویا افیسینالیس بر فراموشی ناشی از تزریق پس از آموزش مورفین در روش یادگیری اجتنابی غیرفعال در موش صحرایی

آسیه علیزاده مکوندی [1*]، لطف‌اله خواجه پور [2]، مهناز کسمتی [3]

خلاصه:

سابقه و هدف: برخی مطالعات نشان داده‌اند که مورفین با تاثیر بر سیستم‌های نوروترانسمیتری مختلف، بر حافظه اثر سوء می‌گذارد. هم‌چنین، گزارشاتی وجود دارد که بیان می‌دارند گیاه مریم گلی (سالویا افیسینالیس) می‌تواند باعث بهبود حافظه شود. لذا، در این تحقیق بر آن شدیم که اثر توام مورفین و عصاره هیدروالکلی سالویا افیسینالیس بر به‌یادآوری حافظه را مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش‌ها: موش‌های بزرگ آزمایشگاهی (با وزن متوسط ۲۵۰-۲۲۰) با استفاده از دستگاه استپ ترو برای بررسی یادگیری اجتنابی غیر فعال آموزش داده شدند (شوک با ولتاژ ۱/۵ میلی‌آمپر به‌مدت ۳ ثانیه). بلافاصله پس از آموزش، گروه‌هایی از حیوانات مورفین (۲/۵، ۵، ۷/۵ mg/kg s.c.) یا عصاره سالویا افیسینالیس (۶۰، ۴۰، ۲۰ mg/kg s.c.) را به‌صورت محیطی دریافت کردند، و گروهی عصاره (۲۰mg/kg s.c.) را قبل از آموزش و مورفین (۷/۵ mg/kg s.c.) را پس از آموزش دریافت کردند. ۲۴ ساعت پس از آموزش، حافظه طولانی مدت حیوان بر اساس زمان تاخیر در دستگاه استپ ترو (زمان تاخیر ورود حیوان به بخش تاریک) ارزیابی گردید.

نتایج: این مطالعه مشخص کرد که، تزریق پس از آموزش مورفین (۵، ۷/۵ mg/kg s.c.) و سالویا افیسینالیس (۴۰، ۶۰ mg/kg s.c.) به‌ترتیب باعث ایجاد اختلال و تقویت یادآوری حافظه حیوانات در روز آزمون شدند. هم‌چنین، اختلال در یادآوری حافظه ناشی از تزریق محیطی پس از آموزش مورفین (۷/۵ mg/kg s.c.) به‌واسطه تزریق قبل از آموزش سالویا افیسینالیس (۲۰ mg/kg s.c.) اصلاح گردید.

نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد که تزریق عصاره آبی‌الکلی سالویا افیسینالیس می‌تواند جلوی تخریب حافظه ناشی از مورفین را بگیرد.

واژگان کلیدی: سالویا افیسینالیس، مورفین، نوروترانسمیتر، موش بزرگ آزمایشگاهی

فصلنامه علمی – پژوهشی فیض، دوره پانزدهم، شماره ٤، زمستان ۱۳۹۰، صفحات ۳۰۹-۳۰۲

مقدمه

برخی شواهد نشان می‌دهند که اوپیوئیدها اثرات تخریبی بر فرآیند حافظه و یادگیری در حیوانات آزمایشگاهی دارند [۳-۱]. نشان داده شده است که تزریق مورفین قبل و یا بعد از آموزش باعث ایجاد اختلال در یادگیری اجتنابی غیرفعال شده، موجب فراموشی می‌گردد. در حالی‌که تزریق پیش از آزمون آن موجب برگشت حافظه به حالت طبیعی می‌شود [٤]. این برگشت حافظه به مقدار دارو و زمان مصرف آن بستگی دارد [۵]. این اثر دو گانه مورفین بر یادگیری و حافظه، ممکن است ناشی از دخالت سیستم‌های نوروترانسمیتری نواحی مختلف مغز از قبیل سیستم دوپامینرژیک ناحیه تگمنتوم شکمی [٦] و سیستم گلوتاماترژیک و کولینرژیک هسته اکومبنس باشد [۸،۷].

مطالعات نشان می‌دهند که اوپیوئیدها، از طریق کاهش آزادسازی استیل کولین در مغز با واسطه گیرنده‌های μ اوپیوئیدی، حافظه و یادگیری را تحت تاثیر قرار می‌دهند [۹]. هیپوکامپ و آمیگدال از نواحی مهم مغزی هستند که فرآیندهای یادگیری و حافظه را میانجی‌گری می‌کنند [۱۰]. هر دو سیستم اوپیوئیدی و کولینرژیک، به‌طور گسترده‌ای در این نواحی مغزی توزیع شده‌اند [۱۲،۱۱]. مطالعات نشان می‌دهند که، گیرنده‌های μ اوپیوئیدی پیش سیناپسی در هیپوکامپ موجب مهار آزاد سازی استیل کولین می‌گردد [۱۳،۱۲]؛ به‌طوری‌که تزریق سیستمیک مورفین فعالیت سیستم کولینرژیک را در هیپوکامپ کاهش می‌دهد [۱٤،۱۳]. این گزارش‌ها پیشنهاد می‌کنند که آسیب حافظه ناشی از مصرف مورفین به اثرات مهاری آن بر اعمال کولینرژیک وابسته است [۱٤]. شمار زیادی از گیاهان از جمله گیاهان جنس سالویا (مریم گلی) بر فرآیند حافظه تاثیر می‌گذارند. عصاره گیاهی گونه سالویا افیسینالیس اثرات مثبتی بر بیماری‌های حافظه و افسردگی داشته و از آن در درمان بیماری‌های دستگاه عصبی استفاده می‌شود [۱۵]. هم‌چنین، نشان داده شده است که سالویا افیسینالیس فعالیت گیرنده‌های استیل کولینی دستگاه عصبی مرکزی (هر دو گیرنده‌ی موسکارینی و نیکوتینی) را افزایش داده و بنابراین از آن در درمان بیماری آلزایمر استفاده می‌شود [۱۷،۱٦]. با توجه به اینکه مورفین وابسته به مقدار و زمان مصرف باعث کاهش

[1] دانش آموخته مقطع کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز

[2] استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز

[3] دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز

*نشانی نویسنده مسوول:

اهواز، زیتون کارمندی، بین زیبا و زهره، خیابان فروغ، پلاک ۴۰، واحد ۳

تلفن: ۰۹۱۶ ۳۲۱۵۳۰۳ دورنویس: ۰۶۱۱ ۲۲۴۱۷۴۴

پست الکترونیک: aciehalizadeh@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۹/۱۰/۲۱ تاریخ پذیرش نهایی: ۹۰/۶/۲۷

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-10]

حافظه اجتنابی غیر فعال می‌شود و به‌نظر می‌رسد که این کار را از طریق کاهش فعالیت سیستم کولینرژیک انجام می‌دهد، و از طرف دیگر مطالعات نشان داده‌اند که سالویا افیسینالیس باعث افزایش حافظه می‌شود، لذا در این کار تحقیقاتی بر آن شدیم اثر درمانی مریم گلی را بر فراموشی ناشی از تزریق مورفین مورد مطالعه قرار دهیم.

مواد و روش‌ها

حیوانات آزمایشگاهی

تمامی آزمایش‌ها در تحقیق حاضر، با استفاده از موش‌های بزرگ آزمایشگاهی (Rat) جنس نر، بالغ و از نژاد ویستار به‌وزن ۲۵۰–۲۲۰ گرم انجام گرفت. این حیوانات از مرکز حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور تهیه شده و در محل حیوان‌خانه با دمای ۲±۲٤ درجه سانتی‌گراد و دوره‌ی ۱۲ ساعت تاریکی–روشنایی (تاریکی از ۷ شب تا ۷ صبح و روشنایی ۷ صبح تا ۷ شب) به‌صورت گروه‌های چهار تایی در قسمت‌های مخصوص نگهداری شدند. حیوانات به‌جز هنگام آزمایش‌های رفتاری به آب و غذای کافی دسترسی داشتند. حداقل یک هفته قبل از آزمایشات، حیوانات خریداری شده و در حیوان‌خانه دانشکده علوم بخش زیست شناسی جای داده می‌شدند. برای آسان شدن کار و سازش با شرایط محیط و آزمایش کننده، حیوانات سه روز قبل از آموزش، روزانه به‌مدت ۳ تا ۵ دقیقه دست آموز می‌شدند. آموزش و آزمون در دوره‌ی روشنایی و در محدوده‌ی ساعت ۸ تا ۱٤ انجام می‌گرفت. برای بررسی اثر مریم گلی بر فراموشی ناشی از تزریق مورفین در سیستم عصبی، حیوانات در گروه های هشت تایی زیر گروه بندی شدند: گروه کنترل دریافت کننده سالین (۱ ml/kg s.c.) قبل از آموزش+سالین (۱ ml/kg s.c.) بعد از آموزش؛ گروه دریافت کننده سالین (۱ ml/kg s.c.) قبل از آموزش+مورفین (۲/۵ mg/kg s.c.) بعد از آموزش؛ گروه دریافت کننده سالین (۱ ml/kg s.c.) قبل از آموزش+ مورفین (۵ mg/kg s.c.) بعد از آموزش؛ گروه دریافت کننده سالین (۱ mg/kg s.c.) قبل از آموزش+مورفین (۷/۵ mg/kg s.c.) بعد از آموزش؛ گروه دریافت کننده سالین (۱ mg/kg s.c.) قبل از آموزش+مریم گلی (۲۰ mg/kg s.c.) بعد از آموزش؛ گروه دریافت کننده سالین (۱s.c. mg/kg) قبل از آموزش+ مریم گلی (٤۰ mg/kg s.c.) بعد از آموزش؛ گروه دریافت کننده سالین (۱ mg/kg s.c.) قبل از آموزش+مریم گلی (٦۰ mg/kg s.c.) بعد از آموزش و گروه دریافت کننده مریم گلی (۲۰ ml/kg s.c.) قبل از آموزش+مورفین (۷/۵ mg/kg s.c.) بعد از آموزش.

مواد و داروها

داروهای مورد استفاده در این مطالعه مورفین و عصاره سالویا افیسینالیس بود. مورفین از شرکت تماد ایران خریداری گردید. مورفین در سرم فیزیولوژیک حل شده و تزریق محیطی آن با حجم ۱ ml/kg پس از آموزش صورت گرفت. برای بررسی اثر توام مورفین و سالویا افیسینالیس (مرحله سوم آزمایشات)، از دوز موثر مورفین (۷/۵ mg/kg s.c.) استفاده شد. بخش مورد استفاده مریم گلی در این مطالعه برگ‌ها و سرشاخه گل‌دار گیاه بود. عصاره الکلی خشک شده گیاه از شرکت کشت و صنعت و تراوری گیاهان دارویی (سها دیسا) خریداری گردیده و برای انجام آزمایشات، در آب مقطر حل شده (مقادیر مختلف عصاره در ۱ میلی لیتر آب مقطر حل و مورد استفاده قرار می‌گرفت) و تزریق محیطی با حجم ۱ ml/kg انجام گرفت. برای بررسی اثر توام مورفین و سالویا افیسینالیس (مرحله سوم آزمایشات)، از دوز غیرموثر مریم گلی (۲۰ mg/kg s.c.) استفاده شد.

روش یادگیری اجتناب غیر فعال (مهاری)

یادگیری اجتنابی غیر فعال، روش مناسبی برای بررسی فرآیند یادگیری و حافظه در حیوانات آزمایشگاهی است. در این تحقیق برای ارزیابی این نوع حافظه در موش بزرگ آزمایشگاهی دستگاه Step–through به‌کار گرفته شد. این دستگاه جعبه‌ای از جنس پلکسی گلاس و متشکل از دو بخش است: ابعاد هر بخش ۳۰×۲۰×۲۰ سانتی‌متر بوده و دریچه‌ای گیوتینی به ابعاد ۹ × ۷ سانتی‌متر، در قسمت پایین دیواره‌ی بین دو بخش قرار دارد که در مواقع لزوم باز شده و حیوان می‌تواند از یک بخش به بخش دیگر برود. یک بخش به رنگ سفید و روشن و بخش دیگر دستگاه تاریک و سیاه است. در هنگامی که حیوان درون دستگاه قرار دارد بخش تاریک توسط سقف سیاه رنگی پوشیده می‌شود. در کف آن نیز میله-های فولادی با فواصل یک سانتی‌متری تعبیه شده که توسط کابل ارتباطی به استیمولاتور متصل است. این دستگاه قادر است یک جریان الکتریکی به‌شدت یک و نیم میلی‌آمپر به‌مدت سه ثانیه با فرکانس ۵۰ هرتز را در این میله‌ها رها کند که موجب وارد شدن شوک الکتریکی به دست و پای حیوان می‌گردد. وقتی حیوان در بخش روشن قرار گیرد بر اساس تمایل ذاتی به تاریکی، بلافاصله به بخش تاریک می‌رود. در صورتی‌که در این مکان به حیوان شوک وارد شده باشد، بر خلاف میل ذاتی از رفتن به درون بخش تاریک اجتناب می‌کند. به‌عبارت دیگر یک یادگیری اجتنابی غیر فعال شکل گرفته است. این یادگیری می‌تواند به‌صورت کوتاه مدت یا طولانی مدت باشد و در اثر داروها تقویت یا تضعیف گردد. برای به‌دست آمدن اطلاعات درست از حافظه حیوان، کلیه آزمایش‌ها باید در

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-10]

محیطی یکسان، ثابت و کاملا آرام انجام گیرد. برای مطالعه حافظه طولانی مدت در این روش یادگیری آزمایش‌ها در دو مرحله با فاصله ٢٤ ساعت انجام می‌گیرد: مرحله اول آموزش و مرحله دوم آزمون.

آموزش

در مرحله آموزش، هر حیوان به آرامی در درون بخش روشن قرار می‌گیرد. بعد از مدت ۱۰ ثانیه دریچه‌ی گیوتینی باز می‌شود تا حیوان بر اساس تمایل ذاتی خود در زمان کوتاهی وارد بخش تاریک شود. به‌محض ورود حیوان به بخش تاریک (هنگامی که چهار دست و پای حیوان از درب گیوتینی عبور کند) بلافاصله دریچه گیوتینی بسته شده و زمان تأخیر ورود حیوان به‌داخل بخش تاریک ثبت می‌شود (اگر این زمان بیشتر از ۱۰۰ ثانیه بود حیوان از گروه آزمایش حذف می‌شود). سپس، حیوان از بخش تاریک خارج شده و به قفس خود برگردانده می‌شود. بدین‌صورت حیوان با دستگاه آشنا می‌شود. بعد از ۳۰ دقیقه مجددا حیوان به بخش روشن انتقال داده شده و پس از گذشت ده ثانیه دریچه باز می‌شود. بلافاصه پس از ورود حیوان به بخش تاریک، دریچه بسته شده و یک شوک الکتریکی به دست و پای حیوان داده می‌شود. در این حالت به‌علت بسته بودن سقف بخش تاریک، حیوان نمی‌توانست از دریافت شوک اجتناب کند. ۲۰ ثانیه بعد از دریافت شوک، حیوان از دستگاه خارج شده و به قفس خود منتقل می‌شود. بعد از ۲ دقیقه، برای بار دوم، این حیوان در بخش روشن قرار داده شده و بعد از ۱۰ ثانیه دریچه باز می‌شود. اگر با گذشت ۱۲۰ ثانیه حیوان به بخش تاریک وارد نشود، آموزش آن کامل است و به‌عبارت دیگر یادگیری موفق برای حیوان ثبت می‌شود. سپس، بلافاصله حیوان از دستگاه خارج شده و تزریق‌های بعد از آموزش را دریافت می‌کند. در صورتی‌که تأخیر ورود حیوان به بخش تاریک دستگاه کمتر از ۱۲۰ ثانیه باشد، حیوان بار دوم شوک دریافت کرده، از دستگاه خارج می‌شود. این‌بار نیز بعد از دو دقیقه، حیوان در داخل بخش روشن دستگاه قرار داده می‌شود. در این حالت اگر تأخیر ورود به بخش تاریک از ۱۲۰ ثانیه بیشتر شود حیوان را خارج کرده، داروهای بعد از آموزش تزریق می‌شود. در صورتی‌که مجددا حیوان قبل از ۱۲۰ ثانیه وارد بخش تاریک شود، بعد از دو دقیقه برای بار سوم شوک دریافت می‌کند. سپس، حیوان از دستگاه خارج شده و پس از دریافت تزریق‌های بعد از آموزش به قفس خود منتقل می‌شود [۱۸].

آزمون

برای بررسی حافظه حیوان ٢٤ ساعت بعد از مرحله آموزش، آزمون انجام می‌گیرد. در این مرحله شوک الکتریکی داده نمی‌شود؛ بلکه هر حیوانی که روز قبل آموزش دیده، با یک فاصله زمانی معین به بخش روشن انتقال داده می‌شود. در این حالت هم بعد از گذشت ۱۰ ثانیه دریچه باز شده، زمان تأخیر ورود حیوان به بخش تاریک به‌عنوان داده‌های آزمایش ثبت می‌شود. حداکثر زمان تأخیر ۳۰۰ ثانیه در نظر گرفته می‌شود. به‌خاطرآوری دریافت شوک در بخش تاریک، موجب مهار تمایل ذاتی حیوان برای ورود به بخش تاریک و اجتناب از ورود به آن می‌شود. افزایش تأخیر ورود حیوان در مرحله آزمون، نشان دهنده تقویت حافظه بوده و کاهش زمان ورود حیوان، تضعیف حافظه را نشان می‌دهد [۱۸].

تجزیه و تحلیل آماری

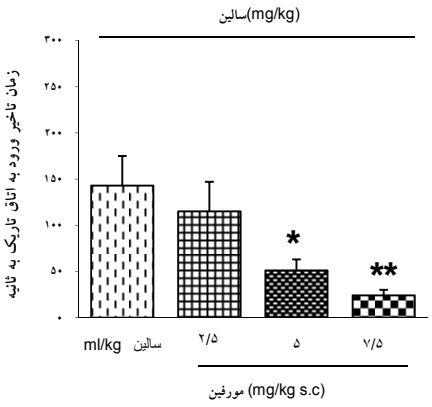
به‌منظور بررسی و مقایسه داده‌ها از نرم افزار SPSS و آزمون‌های ANOVA و t استفاده شد. از آزمون t برای مشخص کردن دوز موثر مورفین بین هر گروه از حیوانات دریافت کننده مقدار مشخص مورفین با گروه شاهد استفاده شده است. هم‌چنین، تاثیر مقادیر مختلف سالویا افیسینالیس بر یادآوری حافظه ابتدا توسط آزمون t مشخص گردیده، سپس از طریق ANOVA سطح معنی‌داری گروه‌های مختلف دریافت‌کننده مورفین و گروه شاهد، گروه‌های مختلف دریافت کننده سالویا افیسینالیس و گروه شاهد و اثر توام مورفین و سالویا افیسینالیس با مقدار موثر مورفین و مقدار غیرموثر سالویاافیسینالیس استفاده شده است. حداقل سطح معنی‌داری با $P<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

نتایج

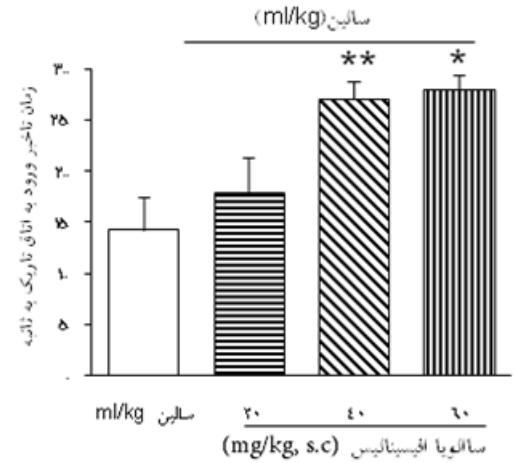
در بخش اول آزمایشات، حیوانات قبل از آموزش، سالین (۱ ml/kg s.c.) و پس از آموزش گروه شاهد سالین (ml/kg s.c. ۱) و سه گروه دیگر، مورفین (s.c. mg/kg ۷/۵، ۵، ۲/۵) را دریافت کردند. ٢٤ ساعت بعد به‌یادآوری حافظه آنها در دستگاه استپ ترو سنجیده شد و زمان تاخیر ورود حیوان به درون بخش تاریک ملاک ارزیابی به‌یادآوری حافظه قرار گرفت. ابتدا برای به‌دست آوردن مقدار موثر مورفین در تخریب حافظه، هر گروه از حیوانات مقدار مشخصی از مورفین (mg/kg, s.c ۷/۵، ۵ ،۲/۵) را دریافت کرده و با گروه شاهد که فقط سالین دریافت کرده بود مقایسه گردید (از طریق آزمون t). این آزمون معین کرد که مورفین با دوز ۲/۵ ml/kg تغییرات معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد در به‌یادآوری حافظه نشان نداد، در حالی که دوزهای mg/kg, s.c ۷/۵ و ۵ مورفین به‌ترتیب تغییرات معنی‌داری ($P<۰/۰۱$** و $P<۰/۰۵$*) را در مقایسه با گروه شاهد نشان داد. آنالیز واریانس یک‌طرفه نیز نشان داد حیواناتی که سالین و مقادیر مختلف مورفین (mg/kg, s.c ۷/۵، ۵، ۲/۵) را پس از آموزش دریافت کردند تفاوت معنی‌داری [$F(۳،۲۸)=۵/۶۰$، $P=۰/۰۱$] را در مقایسه با گروه شاهد (سالین/سالین) در به‌یادآوری حافظه نشان دادند

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-10]

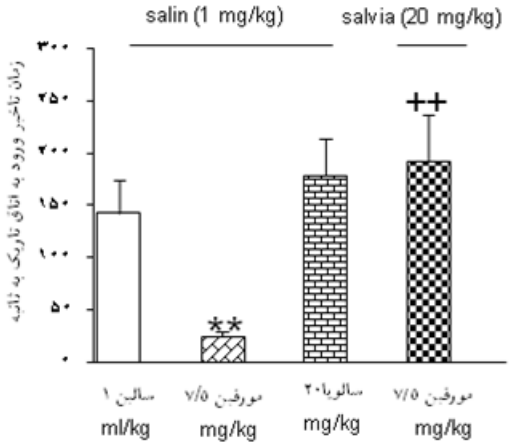
(نمودار شماره ۱). در آزمایش مرحله‌ی سوم از مقدار موثر مورفین (۷/۵ mg/kg) استفاده گردید. در سری دوم آزمایشات، حیوانات قبل از آموزش سالین (۱ ml/kg s.c.) و پس از آموزش گروه شاهد، سالین (۱ ml/kg s.c.) و سه گروه دیگر عصاره مریم گلی (mg/kg s.c. ۶۰، ۴۰، ۲۰) را دریافت کردند. روز بعد، یعنی ۲۴ ساعت پس از جلسه آموزش، چهار گروه آزمایش در دستگاه استپ ترو قرار گرفته و مدت زمان ماندن آنها در اتاق روشن که بیانگر به‌یاد آوردن شوک در اتاق تاریک بود، ملاک ارزیابی به‌یادآوری حافظه قرار گرفت. آزمون t بین مقادیر مختلف عصاره (۶۰ mg/kg s.c.، ۴۰، ۲۰) و گروه شاهد به‌ترتیب سطح معنی‌دار بودن و نبودن گروه ها را نشان داد (**$P<$۰/۰۱). هم‌چنین آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد حیواناتی که سالین و مقادیر مختلف مریم گلی (۶۰ mg/kg s.c.، ۴۰، ۲۰) را پس از آموزش دریافت کردند تفاوت معنی‌داری [P=۰/۰۱، ۶/۴۷ =F(۳،۲۸)] را در مقایسه با گروه شاهد (سالین/سالین) در به‌یادآوری حافظه نشان دادند (نمودار شماره ۲). در آزمایش مرحله‌ی سوم از مقدار غیر موثر عصاره مریم گلی استفاده گردید. در مرحله سوم آزمایش، بعد از مشخص شدن مقدار موثر مورفین و مقدار غیرموثر عصاره مریم گلی، حیوانات قبل از آموزش عصاره مریم گلی (۲۰ mg/kg s.c.) و پس از آموزش مورفین (۷/۵ mg/kg s.c.) را دریافت کردند. سپس در روز بعد به‌یادآوری حافظه آن‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان داد که بین این گروه و گروه دریافت کننده سالین (۱ ml/kg s.c.)/ مورفین (۷/۵ mg/kg s.c.) تفاوت معنی‌داری [P=۰/۰۵، ۵/۷= (۳،۲۸) F] وجود دارد (نمودار شماره ۳).



نمودار شماره ۱- اثر تزریق پس از آموزش مورفین بر حافظه اجتنابی غیر فعال. حیوانات قبل از آموزش سالین (۱ ml/kg, s.c.) و بلافاصله پس از آموزش سالین و مقادیر مختلف مورفین (۷/۵ mg/kg, s.c.، ۵، ۲/۵) را دریافت کردند و ۲۴ ساعت بعد مورد آزمون قرار گرفتند. ستون‌ها انحراف معیار±میانگین را نشان می‌دهند. *$P<$۰/۰۵ و **$P<$۰/۰۱ در مقایسه با گروه شاهد سالین/سالین است.



نمودار شماره ۲- اثر تزریق پس از آموزش سالویا افیسینالیس بر حافظه اجتنابی غیر فعال. حیوانات قبل از آموزش سالین (۱ ml/kg s.c.) و بلافاصله پس از آموزش سالین و مقادیر مختلف سالویا افیسینالیس (mg/kg , s.c. ۶۰، ۴۰، ۲۰) را دریافت کردند و ۲۴ ساعت بعد مورد آزمون قرار گرفتند. ستون‌ها انحراف معیار±میانگین را نشان می‌دهند. **$P<$۰/۰۱ در مقایسه با گروه شاهد سالین/سالین است.



نمودار شماره ۳- اثر توام تزریق قبل از آموزش سالویا افیسینالیس و تزریق پس از آموزش مورفین بر حافظه اجتنابی. حیوانات قبل از آموزش سالویا افیسینالیس (۲۰ mg/kg, s.c.) و بلافاصله پس از آموزش مورفین (۷/۵ mg/kg, s.c.) را دریافت کردند و ۲۴ ساعت بعد مورد آزمون قرار گرفتند. ستون‌ها انحراف معیار±میانگین را نشان می‌دهند. **$P<$۰/۰۱ در مقایسه با گروه شاهد سالین/سالین است. ++$P<$۰/۰۱ در مقایسه با گروه سالین/مورفین است.

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تزریق مورفین پس از آموزش، به‌طور وابسته به مقدار حافظه را در یادگیری اجتنابی غیر فعال در مدل step- through تخریب می‌کند، این فراموشی ناشی

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-10]

از تزریق مورفین، نتایج و مطالعات قبلی مبنی بر اینکه تزریق سیستمیک مورفین موجب کاهش حافظه می‌گردد را تایید می‌کند [۲۱-۱۹]. دخالت مورفین و سیستم اوپیوئیدی در تعدیل یادگیری و حافظه به‌ویژه در فراگیری و ذخیره حافظه، در مطالعات زیادی نشان داده شده است. مطالعات نشان داده‌اند که تزریق پیش از آموزش مورفین مرحله اکتساب حافظه را در مدل‌های متفاوت یادگیری از جمله ماز Y شکل [۲۰]، حافظه اجتنابی فعال و غیر-فعال [۲۱] مهار می‌کند. مورفین همچنین حافظه کاری (فعال) را تخریب کرده و مانع از یادگیری در ماز باز، شعاعی و y شکل در موش بزگ آزمایشگاهی شده است [۲۲،۱٤،۱]. همچنین مصرف پیش از آموزش مقادیر mg/kg ۱۰ و ۵ مورفین (که تقریبا برابر مقادیر به‌کار برده شده در این تحقیق می‌باشد) موجب کاهش حافظه شده و فراموشی ایجاد کرده است، حال آنکه هنگامی که همان مقادیر از مورفین که موجب تخریب حافظه به‌صورت پیش یا پس از آموزش گردیده است، برای دومین بار و قبل از آزمون به حیوان تزریق گردد، حافظه حیوان به سطح قبل از تزریق‌های مورفین برگشت پیدا می‌کند. این اثرات مورفین بر حافظه و یادگیری وابسته به زمان مصرف و مقدار دارو می‌باشد [۲۳،۱۹،۱]. در تحقیق حاضر نیز، تزریق پس از آموزش مقادیر mg/kg ۷/۵ و ۵ مورفین در موش بزرگ آزمایشگاهی حافظه را تخریب کرده و موجب فراموشی گردیده است. همچنین، نتایج به‌دست آمده از این آزمایشات نشان داد که تزریق عصاره تام برگ‌های سالویا افیسینالیس پس از آموزش وابسته به مقدار حافظه در یادگیری اجتنابی غیرفعال که در مدل step-through سنجیده شده است را افزایش می‌دهد و این مطابق تحقیقات قبلی است [۱٦] که تزریق عصاره استخراج شده از برگ‌های سالویا به میزان mg/kg۱۰۰، ۵۰ در مدل استپ ثرو باعث افزایش حافظه می‌شود [۱٦]. این مطالعه نشان داد که تزریق قبل از آموزش سالویا افیسینالیس اثر فراموشی ناشی از تزریق پس از آموزش مورفین را به‌طور قابل توجهی بهبود بخشیده است. نشان داده شده است که سالویا افیسینالیس موجب افزایش عملکرد مغز و حواس و نیز افزایش حافظه می‌شود و همچنین تاثیر به‌سزایی در کاهش یا نقصان شناخت در ارتباط با افزایش سن دارد [۱۷]. Deutsch استدلال کرد که یادگیری و حافظه به فعالیت مکانیسم‌های سیناپسی کولینرژیک ارتباط داشته و داروهایی که میزان پاسخ این سیناپس‌ها را افزایش یا کاهش می-دهند، می‌توانند حافظه را به‌ترتیب تشدید و تضعیف کنند [۲٤]. بیان شده است که سالویا افیسینالیس در درمان طبیعی بیماری آلزایمر استفاده می‌شود که احتمال می‌رود این کار را با افزایش فعالیت گیرنده‌های استیل کولینی و هم نیکوتینی در دستگاه عصبی مرکزی انجام می‌دهد [۲۵]. گزارش شده است که، تزریق سالویا افیسینالیس (mg/kg ۵۰) و پیلوکارپین آگونیست گیرنده‌های موسکارینی (µg/rat ۱، ۰/۵) پس از آموزش به‌طور قابل توجهی اثر هم را تشدید کرده و باعث افزایش به‌یاد آوری حافظه در روز آزمون گردیده است. همچنین، تزریق همزمان سالویا افیسینالیس (mg/kg ۵۰) و نیکوتینیک اسید (µg/rat ۰/۱، ۰/۰۱) نیز باعث افزایش حافظه در روز آزمون گردیده است [۱٦]. یک مطالعه نشان داده است شماری از خواص آزمایشگاهی سالویا افیسینالیس در ارتباط با رفتار، در اثرکاهش فعالیت استیل کولین استرازی در بافت مغزی انسان است [۱۷]. از سوی دیگر بیان شده است که مورفین از طریق سیستم‌های نوروترانسمیتری مختلف [۲۸-۲٦] از جمله سیستم کولینرژیک بر فرآیند حافظه تاثیر می‌گذارد [۸،۷]. هیپوکامپ و آمیگدال از اجزای سیستم لیمبیک، نواحی مهم مغزی هستند که فرآیندهای یادگیری و حافظه را میانجی‌گری می‌کنند [۱۰]. بعضی گزارش‌ها نشان می‌دهند که، گیرنده‌های µ اوپیوئیدی پیش سیناپسی در هیپوکامپ، موجب مهار آزادسازی استیل کولین می‌گردد [۱۳،۱۲]؛ به‌طوری‌که تزریق سیستمیک مورفین فعالیت سیستم کولینرژیک را در هیپوکامپ کاهش می‌دهد [۱٤،۱۳]. به-علاوه بیان شده است که تزریق مرکزی آنتاگونیست نیکوتینی و موسکارینی کولینرژیک، حافظه وابسته به حالت ناشی از مورفین در یادگیری اجتنابی غیرفعال را تغییر می‌دهد [۲۹]. این گزارش‌ها پیشنهاد می‌کنند که آسیب حافظه ناشی از مورفین به اثرات مهاری آن بر اعمال کولینرژیک وابسته است. همچنین مطالعات حاکی از آن است که هر دو گیرنده‌ی نیکوتینی و موسکارینی استیل کولین موجود در هیپوکامپ پشتی می‌توانند در یادگیری وابسته به پاداش مورفین دخالت داشته باشند [۱٤].

نتیجه گیری

با توجه به مطالعه حاضر و مطالعات قبلی به‌نظر می‌رسد عصاره تام سالویا افیسینالیس با فعال کردن گیرنده‌های موسکارینی و نیکوتینی اثرات مهاری مورفین بر سیستم کولینرژیک را تعدیل کرده و به‌یادآوری حافظه در روز آزمون را بهبود می‌بخشد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با کمک مالی دانشگاه شهید چمران، دانشکده علوم بخش زیست شناسی انجام گرفت. بدین‌وسیله از همکاری دکتر سید نژاد تشکر و قدردانی می‌شود.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-10]

References:

[1] Nishimura M, Shiigi Y, Kaneto H. State dependent and/or direct retrieval by morphin in mice. ***Psychopharmacology (Beri)*** 1990; 100(1): 27-30.

[2] Ragozzino ME, Gold PE. Task-dependent effects of intra-amygdala morphin injection: attention by intra-amygdala glucose injections. ***J Neurosci*** 1994; 14(12): 7478-85.

[3] Ukai M, Lin HP. Involvement of mu(l)- opioid receptors and cholinergic neurotransmission in the endomorphines- induced impairment of passive avoidance learning in mice. ***Behav Brain Res*** 2002; 129(1-2); 197-201.

[4] Zarrindast MR, Bananej M, Khallilzadeh A, Fazli–tabaei S, Haeri-Rohani A, Rezayof A. Influence of intracerebroventricular administration of dopaminergic drug on morphin state-dependent memory in the step-down passive avoidance test. ***Neurobiol learn Mem*** 2006; 86(3): 286-92.

[5] Jafari-Sabat M, Zarrindast MR, Rezayat M, Rezayof A, Djahanguiri B. The influence of NMDA receptor agonist and antagonist on morphin state-dependent memory of passive avoidance in mice. ***Life sci*** 2005; 78(2): 157-63.

[6] Zarrindast MR, Farajzadeh Z, Rostami P, Rezayof A, Nourjah P. Involvement of the ventral area (VTA) in morphin- induced memory retention in morphin- sensitized rats. ***Behav Brain Res*** 2005; 163(1): 100-6.

[7] Ahmadi S, Zarrindast MR, Haeri- Rohani A, Rezayof A, Nouri M. Nicotine improves morphin–induced impairment of memory: Possible involvement of N-methyl-D-aspartate receptors in the nucleus accumbens. ***Dev Neurobiol*** 2007; 67(8): 1118-27.

[8] Tjon GH, De vries TJ, Nestby P, Wardeh G, Mulder AH, Schoffelmeer AN. Intermittent and chronic morphin treatment induced long–lasting changes in delta–opioid receptor–regulated acetylcgoline release in rat striatum and nucleus accumbens. ***Eur J pharmacol*** 1995; 283(1-3): 169–76.

[9] Ragozzino ME, Wenk GL, Gold PE. Glucose attenuates a morphin–induced decrease in hippocampal acetylcholine output: an in vivo microdialysis study in rats. ***Brain Res*** 1994; 655(1-2): 77-82.

[10] Izquierdo I, Medina JH. Role of the amygdale, hippocampus and entorhinal cortex in memory consolidation and expression. ***Braz J Boil Res*** 1993; 26(6): 573–89.

[11] Jackish R, Geppert M, Brenner AS, Illes P. Presynatic opioid receptor modulating acetylcholine release in the hippocampus of the rabbit. Naunyn schmiedeebergs ***Arch Pharmacol*** 1986; 332: 156–62.

[12] Lapchak PK, Araujo DM, Collier B. Regulation of endogenous acetylcholine release from mammalian brain slices by opiate receptor: hippocampus, striatum and cerebral cortex of gunnea–pig and rat. ***Neuroscience*** 1989; 31(2): 313–25.

[13] Decker MW, McGaugh JL. The role interaction between the cholinergic system and other neuromodulatory system in learning and memory. ***Synapse*** 1991; 7(2): 151–68.

[14] Li Z, Wu CF, Pei G, Xu NJ. Reversal of morphin–induced memory impairment in mice by withdrawal in morris water maze: possible involvement of cholinergic system. ***Pharmacol Biochem Behav*** 2001; 68(3): 507–13.

[15] Perry NS, Bollen C, Perry EK, Ballard C. Salvia for dementia therapy: review of pharmacological activity and pilot tolerability clinical trial. ***Pharmacol Biochem and Behav*** 2003; 75(3): 651–9.

[16] Eidi M, Eidi A, Bahar M. Effects of Salvia officinalis L. (sage) leaves on memory retention and its interaction with the cholinergic system in rats. ***Nutrition*** 2006; 22(3): 321–6.

[17] Tildesley NT, Kennedy DO, Perryb EK, Ballard CG, Wesnes KA, Scholey AB. Positive modulation of mood and cognitive performance following administration of acute doses of Salvia lavandulaefolia essential oil to healthy young volunteers. ***Physiol Behav*** 2005; 83(5): 699–709.

[18] Santhakumar V, Wallner M, Otis TS. Ethanol acts directly on extrasynaptic subtypes of GABAA receptors to increase tonic inhibition". ***Alcohol*** 2007; 41 (3): 211–21.

[19] Bruins Slot LA, Colpaert FC. Opiates states of memory: receptor mechanism. ***J Neurosci*** 1999; 19(23): 10520-9.

[20] Castellano C. Effects of morphin and heroin on discrimination learning and consolidation in mice. ***Psychopharmacologia*** 1975; 42(3): 235- 42.

[21] Izquierdo I. Effects of naloxone and morphin on various form of memory in the rat: possible role of endogenous opiate mechanisms in memory consolidation. ***Psychopharmacology (Beri)*** 1979; 66(2): 199-203.

[22] Introini IB, Baratti CM. The impairment of retention by beta-endorphin in mice may be mediated by a reduction of central cholinergic activity. ***Behav Neural Biol*** 1984; 41(2): 152-63.

[23] Bruins Slot LA, Colpaert FC. Recall rendered dependent on an opiate state. ***Behav Neurosci*** 1999; 113(2): 337-44.

[24] Deutsch JA. The cholinergic synapse and the site of memory. ***Science*** 1971; 174(11): 788-94.

[25] Akhondzadeh S, Noroozian M, Mohammadi M, Ohadinia S, Jamshidi AH, Khani M. Salvia officinalis extract in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a double blind, randomized and placebo-controlled trial. ***J Clin Pharm Ther*** 2003; 28(1): 53–9.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-10]

[26] Homayoun H, Khavandgar S, Zarrindast MR. Morphine state dependent learning: interactions with alpha2- adrenoceptors and acute stress. ***Behav Pharmacol*** 2003; 14(1): 41-8.
[27] Khavandgar S, Homayoun H, Zarrindast MR. The effect of L-NAME and L-arginine on impairment of memory formation and State dependent learning induced by morphin in mice. ***Psychopharmacology (Beri)*** 2003; 167(3): 291-6.
[28] Rezayof A, Amini R, Rassuli Y, Zarrindast MR. Influence of nitric oxide on morphin–induced amnesia and interactions with dopaminergic receptor agents. ***Physiol Behav*** 2006; 88(1-2): 124-31.
[29] Pu L, Bao GB, Xu NJ, Ma L, Pei G. Hippocampal long-term potentiation is reduced by chronic opiate treatment and can be restored by re-exposure to opiates. ***J Neurosci*** 2002; 22(5): 1914-21.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2025-07-10]