● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ بیست و یکم، شمارهٔ ۴، ص ۲۸۹-۲۷۷، ۱۳۹۳

مقالهٔ پژوهشی

تأثیر مواجهه با آلودگی صوتی در دوره بارداری بر القای تقویت درازمدت در نورون‌های هرمی ناحیه CA1 هیپوکامپ فرزندان موش صحرایی

فاطمه سادات سجادی[۱]، سید علیرضا طلائی[۲]، محمود سلامی[۳]، غلامعلی حمیدی*[۴]

خلاصه

مقدمه: اعتقاد بر این است که فرآیندهای شناختی به آسانی تحت تأثیر تحریکات محیطی ناسازگار قرار می‌گیرند. در مطالعات زیادی نشان داده شده است که استرس مادر در دوران بارداری بر روی تکامل مغز جنین وی مؤثر است. هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثر مواجهه با آلودگی صوتی در دوران بارداری بر پاسخ‌های نورونی ناحیه CA1 هیپوکامپ فرزندان در موش صحرایی می‌باشد.

روش: ۴ گروه موش صحرایی نر ۴۵ روزه شامل یک گروه کنترل که مادران آنها یک دوره طبیعی بارداری را پشت سر گذاشته بودند و سه گروه مورد مداخله که مادران آنها در هفته سوم بارداری روزانه بین ساعت ۸ تا ۱۴ به مدت ۱و۲و۴ ساعت در معرض سر و صدای آزارنده ترافیک شهری با شدت ۹۵ دسی بل به بالا قرار گرفته بودند، وارد پژوهش شدند. سپس در نوزادان نر این گروه‌ها ویژگی‌های پتانسیل‌های پس سیناپسی تحریکی میدانی (fEPSP) ناشی از تحریک مدارهای نورونی کولترال شافر در محل دندریت نورون‌های ناحیه CA1 در حالت پایه و بعد از القای تقویت دراز مدت (Long-term potentiation: LTP) با اعمال تحریک تتانیک بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج حاکی از آن بود که اعمال آلودگی صوتی ترافیک در هفته سوم بارداری باعث کاهش دامنه (P<۰/۰۰۰۱) و شیب پاسخ‌های پایه در ناحیه CA1 هیپوکامپ (P<۰/۰۰۰۱) و همچنین جلوگیری از اایالقای LTP مدارهای نورونی این ناحیه در مقایسه با گروه کنترل می‌شود. همچنین سطح کورتیکوسترون سرم این حیوانات در گروه‌های ۲ و ۴ ساعته افزایش چشمگیری در مقایسه با گروه کنترل داشت . اما تفاوت معنی‌داری در سطح سرمی کورتیکوسترون بین گروه‌های یک ساعته و کنترل وجود نداشت.

نتیجه‌گیری: بر اساس یافته‌های حاضر، مواجهه روزانه با آلودگی صوتی در دوزهای یک، دو و چهار ساعت در هفته سوم بارداری در موش صحرایی، باعث کاهش خصوصیات پاسخ نورون‌های هرمی ناحیه CA1 هیپوکامپ فرزندان آنها می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آلودگی صوتی، دوره بارداری، تقویت دراز مدت، هیپوکامپ، فرزندان موش صحرایی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان ۲- دانشجوی Ph.D علوم اعصاب، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان ۳- استاد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان ۴- دانشیار فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

* نویسنده مسؤول، آدرس پست الکترونیک: hamidi_gh@kaums.ac.ir

دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۲/۲۳ دریافت مقاله اصلاح شده : ۱۳۹۲/۵/۲۲ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۶/۲۷

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

اهمیت شرایط جسمی و روانی مطلوب در دوران بارداری، برای تکامل بهتر جنین قطعی به نظر می‌رسد (۱). مواجهه مادر با استرس در دوران بارداری یک عامل بالقوه مهم در تضعیف تکامل جنینی محسوب می‌شود (۲). ثابت شده است که تنش‌های مختلف در طول بارداری پستانداران، بویژه در سه ماهه سوم بارداری که ارتباطات نورونی در بالاترین حد تشکیل خود است (۳)، باعث عواقب بارداری نامطلوب و ضعف سلامت نوزادی (۲) از جمله نواقص رفتاری (۱) و شناختی (۴) می‌شود. استرس قبل از تولد منجر به افزایش هورمون‌های استرسی مادر و در نتیجه افزایش سطح هورمون کورتیکواستروئیدی (کورتیزول در انسان و کورتیکوسترون در بیشتر جوندگان) در پاسخ به استرس در جنین آنها و در پی آن کاهش تعداد گیرنده‌های کورتیکواستروئیدی هیپوکامپ و اختلال در مکانیسم فیدبکی محور هیپوتالاموس، هیپوفیز، آدرنال (Hypothalamic Pituitary Adrenal: HPA) می‌شود (۵-۷).

هیپوکامپ ساختاری در لوب میانی گیجگاهی قرار داشته و نقش مهمی در تنظیم هورمون‌های استرسی و فرآیندهای حافظه و یادگیری دارد. این ساختار حاوی تراکم بالایی از گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی شامل مینرالوکورتیکورسپتورها (MR) و گلوکوکورتیکورسپتورها (GR) است (۸).

در چندین مطالعه نشان داده شده است که استرس دوران بارداری (محدود کردن حیوان، شنای اجباری، تزریق سالین به کف پا) منجر به تخریب LTP (Long –term potentiation) یا تقویت دراز مدت -مکانیسم ملکولی پیشنهادی در یادگیری و حافظه (۹) در ناحیه CA1 هیپوکامپ می‌شود (۱۰،۱۱). در مطالعه دیگری استرس در دوران بارداری سبب بروز آسیب در حافظه و یادگیری فضایی فرزندان شده که می‌تواند به علت کاهش در نورون‌زایی در هیپوکامپ باشد (۱۲). یانگ (Yang) و همکاران هم عنوان کرده‌اند که وارد شدن شوک به پا در روزهای ۱۳ تا ۱۹ بارداری باعث اختلال LTP در ناحیه CA1 هیپوکامپ جنین نر ۵ هفته آنها می‌شود (۱۳).

از جمله عوامل تنش‌زا آلودگی صوتی می‌باشد. آلودگی صوتی یا سر و صدا که خود نوعی عامل تنش‌زای بیولوژیکی محسوب می‌شود (۱۴)، به صورت یک صدای ناخوشایند یا ناخواسته تعریف شده که می‌تواند محیطی یا شغلی باشد (۱۵). متاسفانه در جهان مدرن کنونی حمل و نقل به دنبال پیشرفت وضعیت اقتصادی منبع عظیمی از سر و صدای محیطی را تولید می‌کند(۱۸-۱۶). اخیرا سازمان جهانی بهداشت (WHO) سر و صدا را یک آلاینده محیطی مضر معرفی کرده، که اثراتی بر روی سیستم شنوایی، رفتار و سلامت روانی بدن می‌گذارد. این سازمان پیشنهاد می‌کند که برای جلوگیری از اثرات روانی و اجتماعی بالقوه، سر و صدای محیطی نباید از ۵۵ دسی‌بل در روز و ۴۰ دسی‌بل در شب تجاوز کند (۱۵،۱۹). با توجه به اینکه به نظر می‌رسد استرس صوتی در دوران بارداری بر قوه حافظه و القای LTP در ناحیه CA1 هیپوکامپ فرزندان اثر گذار باشد و بر اساس مطالعات ما، تاکنون پژوهشی در این زمینه انجام نشده است، هدف از این مطالعه بررسی اثر مواجهه با آلودگی صوتی ناشی از ترافیک در سه ماهه سوم بارداری موش صحرایی بر فعالیت نورونی این ناحیه از هیپوکامپ فرزندان آنها می‌باشد.

روش بررسی

این مطالعه به صورت تجربی بر روی ۴۰ راس موش صحرایی نر نژاد ویستار ۴۵ روزه و با محدوده وزنی ۱۲۰ تا ۱۶۰ گرم در چهار ده‌تایی (۲۱،۲۰). در پاییز ۱۳۹۱ در مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کاشان به انجام رسید. علت انتخاب موش‌های ۴۵ روزه، تکامل سیستم عصبی این حیوانات در این زمان است (۲۲). حیوانات در

Archive of SID

www.SID.ir

شرایط استاندارد حیوان خانه (دمای ۲°C± ۲۲، رطوبت ۵±۵۵٪ و دوره تاریکی- روشنایی ۱۲-۱۲ ساعته) نگهداری شده و از نظر دسترسی به آب و غذا کاملا آزاد بودند. اصول کار با حیوانات مطابق با مصوبه کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کاشان و معاهده هلسینکی بود.

گروه‌ها: گروه کنترل (CO) شامل ۱۰ سر موش صحرایی نر ۴۵ روزه می‌شد که مادران آنها یک دوره بارداری طبیعی را گذرانده بودند. گروه‌های یک ساعته (1h)، دو ساعته (2h) و چهار ساعته (4h) هر کدام شامل ۱۰ سر موش صحرایی نر ۴۵ روزه بودند که مادران آنها در هفته آخر بارداری روزانه یک، دو و چهارساعت بین ساعات ۸ تا ۱۴ که ترشح کورتیکوسترون در کمترین حد خود قرار دارد (۲۳)، در مواجهه با سر و صدای آزارنده قرار گرفته بودند. لازم به ذکر است که تشخیص روز اول حاملگی بر مبنای مشاهده پلاک واژنی داده شد. همچنین تنها یک یا دو سر از فرزندان هر حاملگی وارد گروه‌ها گردیدند و برای بارداری از موش‌های صحرایی ماده تقریباً ۶۰ روزه استفاده شد.

مداخله صوتی: به منظور تولید صدای یکنواخت در محیط و نیز مواجه شدن همه جانبه حیوانات با صوت، قفس آنها در محفظه انعکاسی از جنس پلکسی گلاس و با ابعاد ۶۰×۶۰×۹۰ سانتی‌متر قرار گرفت. برای مواجه کردن مادران باردار با آلودگی صوتی ترافیک شهری، ابتدا صدای ناشی از ترافیک در یکی از میادین پر ترافیک شهر تهران (میدان انقلاب) توسط یک دستگاه ضبط صوت استاندارد، ضبط شد و با استفاده از نرم‌افزار Sonar 8.5 شدت آن معادل ۹۵ دسی بل تنظیم شد. این شدت انتخاب شده، قابل مقایسه با شدت صوت در مکان‌های صنعتی است (۲۴). سپس توسط یک بلندگو که در فاصله ۳۰ سانتی‌متری سقف قفس حیوان قرار داشت، در محیط پخش گردید. برای اینکه حیوانات در همه ساعات در معرض شدت صوت یکسان قرار بگیرند با یک دستگاه Sound Level Meter شدت صوت در تمام مدت زمان مواجهه پایش شد. با توجه به اینکه صدای ضبط شده از ترافیک طیف وسیعی از فرکانس‌های صوتی را در بر می‌گیرد، در این تحقیق تنها شدت آزارنده صوت مد نظر قرار گرفت.

بی‌هوشی و جراحی: ۳۰ دقیقه قبل از انجام آزمایش، حیوانات با تزریق داخل صفاقی داروی اورتان (۱/۵ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) بی‌هوش شدند (۲۵). برای اطمینان از بی هوشی کامل حیوانات، هر دو رفلکس تحریک قرنیه چشم با جسم نوک تیز و تحریک دردناک کف پنجه پا کنترل شدند.سپس حیوان به دستگاه استریوتاکس منتقل شد و پس از ثابت کردن کامل سر حیوان در دستگاه ابتدا حدود ۰/۵میلی لیتر محلول لیدوکائین ۱ درصد زیر پوست سر حیوان تزریق شد تا بی حسی موضعی نیز ایجاد شود و همچنین اندکی فاصله بین پوست سر و استخوان جمجمه ایجاد شده و برش دادن پوست سر آسان‌تر شود. با استفاده از یک قیچی نوک تیز پوست سر از ناحیه پشت گردن حیوان تا بالای بینی بریده شده و به آرامی سایر بافت‌ها کاملا کنار زده می‌شد تا جمجمه نمایان شود.

تعیین محل الکترودها و الکترودگذاری: پس از تعیین نواحی برگما، لامبدا و خط وسط روی جمجمه، محل قرارگیری الکترودها به وسیله‌ی اطلس پاکسینوس مشخص شد. الکترود تحریکی ۴/۲ میلی‌متر پشت برگما و ۳/۸ میلی‌متر در جهت جانبی خط وسط قرار گرفت و الکترود ثبات در نقطه‌ای که ۳/۴ میلی‌متر پشت برگما و ۲/۵ میلی‌متر دورتر از خط وسط بود، مستقر شد (۲۶). سپس توسط یک مته‌ی دندانپزشکی مختصات علامت‌گذاری شده سوراخ شد. الکترودها از جنس استیل با پوشش تفلون و قطر ۰/۰۰۵ اینچ بودند. الکترود دوقطبی تحریکی تا عمق ۲/۴ میلی‌متر از سطح سخت شامه پایین برده شد تا به کولترال‌های شافر نورون‌های ناحیه CA3 هیپوکامپ برسد. الکترود تک قطبی ثبات نیز با فواصل ۱۰ میکرونی و تا عمق ۲/۵ میلی‌متر زیر

Archive of SID

www.SID.ir

سخت شامه برده شد تا به دندریت نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ برسد.

تحریک، ثبت و القای LTP در مدار: بعد از قرار دادن الکترودها در حوالی محل خود به‌منظور تحریک از پالس‌های مربعی با پهنای ۲۰۰ میلیونیوم ثانیه و جریان ثابت ۴۰ تا ۲۰۰ میکروآمپر با فاصله ۱۰ ثانیه استفاده شد و پتانسیل‌های میدانی (Filed Potential) برانگیخته شده توسط الکترود ثبات دریافت گردید (۲۱). نرم‌افزار Neurotrace مسئول نمایش و ثبت آنها در سیستم کامپیوتری بود. سپس با جابجا کردن آرام الکترود ها محل صحیح مدار تعیین شده و پس از حدود ۱/۵ تا ۲ ساعت ثبت که پاسخ‌های نورونی حالت تقریباً ثابت و یکنواخت به‌خود گرفتند، ابتدا چند تحریک به‌صورت Paired Pulse با فاصله زمانی ۵۰ هزارم ثانیه به‌مدار نورونی وارد شد. در صورت بزرگ‌تر شدن دامنه تحریک دوم نسبت به پاسخ تحریک اول، مدار نورونی برای القای LTP و قرارگیری محل الکترودها مناسب تشخیص داده شد و انتخاب گردید. برای القای LTP، ابتدا منحنی Input-Output رسم شد. بدین نحو که از کمترین میزان شدت جریان برای پالس مربعی (۴۰ میکروآمپر) استفاده شد و یک تحریک به مدار وارد شد و اندازه دامنه پاسخ ثبت شد. سپس شدت جریان ۱۰ میکروآمپر بالا برده و دوباره پاسخ ثبت می‌شد و به همین نحو شدت جریان را آنقدر بالا برده تا اندازه پاسخ دیگر تغییری نکرد. با استفاده از نرم‌افزارExcel منحنی شدت جریان در مقابل بزرگی پاسخ رسم شد و شدت جریانی که ۷۰ درصد پاسخ ماکزیمم را تولید کند از روی منحنی انتخاب شده و به‌مدت ۳۰ دقیقه ثبت پایه از مدار نورونی با همین شدت جریان تحریک صورت گرفت. سپس برای القای LTP از طریق تحریک با فرکانس بالا (HFS:High Frequency Stimulation) که الگوی این تحریک شامل ۱۰ قطار با فرکانس ۱۰۰ هرتز و فاصله‌ی ۲ هزارم ثانیه بود (۲۵)، استفاده شد و ثبت پاسخ‌ها به مدت ۲ ساعت دیگر ادامه پیدا کرد. معیار در نظر گرفته شده برای القاء شدنLTP این بود که بزرگی دامنه پاسخ مدار پس از القای LTP ۲۰ درصد بیشتر از دامنه پاسخ قبل از القاء باشد.

اندازه‌گیری سطح کورتیکوسترون سرم: در پایان مطالعات الکتروفیزیولوژی در حالیکه حیوان در بی هوشی کامل به سر می‌برد، گردن حیوان با اسکالپل زده شد و از طریق وریدهای ژوگولار طرفین خونگیری به عمل آمد. سپس با استفاده از کیت رادیو ایمنواسی (DRG Instruments GmBH, Germany) میزان سطح کورتیکوسترون سرم توسط دستگاه گاما کانتر (Berthold; LB951G, Germany) سنجیده شد.

برای تجزیه و تحلیل نتایج الکتروفیزیولوژی، درصد تغییر دامنه‌ی پاسخ‌ها بر حسب میلی‌ولت و همچنین شیب پاسخ ها بر حسب میلی ولت بر میلی‌ثانیه قبل و بعد از اعمال تحریک تتانیک مورد ارزیابی قرارگرفت. داده‌ها با استفاده از آزمون ANOVA دو سویه به همراه پس آزمون Bonferroni آنالیز گردید. میزان کورتیکوسترون (CORT) سرم حیوانات هم توسط آزمون ANOVA یک سویه و آزمون تعقیبی Bonferroni آنالیز شد.کلیه آزمون‌ها و آنالیزهای آماری توسط نرم‌افزارSPSS ویرایش ۱۶ انجام و مقادیر $P<0/05$ معنی‌دار تلقی شد.

نتایج

در این مطالعه اثر استرس صوتی ترافیک در هفته سوم بارداری، بر دامنه و شیب پاسخ نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ فرزندان در حالت قبل و بعد از القای LTP مورد بررسی قرار گرفت.

الف) اثر مواجهه با استرس صوتی در دوران جنینی بر دامنه پاسخ پایه نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ:

بررسی دامنه‌ی fEPSP ثبت شده از ناحیه CA1 هیپوکامپ در پاسخ به تحریک کولترال‌های شافر نشان داد که میانگین دامنه پاسخ‌ها در گروه کنترل ۱/۲۷±۰/۰۶ میلی‌ولت و در گروه یک ساعته۱/۱۴ ±۰/۰۳، در گروه

Archive of SID

www.SID.ir

دو ساعته۰/۰۳±۱/۰۸ و در گروه چهار ساعته۰/۰۵± ۱/۱۳ میلی ولت است. آزمون ANOVA دو سویه نشان داد که اختلاف دامنه بین همه گروه ها معنی‌دار (P<۰/۰۰۰۱، $F_{۷/۱۹۹۲}$ =۵۱/۱۴۶) است. همچنین پس آزمون Bonferroni نشان داد که اختلاف بین گروه‌های CO , 1h : CO , 2h و CO , 4h معنی‌دار است (P<۰/۰۰۰۱ برای همه مقایسه‌ها) (نمودار ۱)

ب) اثر مواجهه استرس صوتی در دوران جنینی بر شیب پاسخ‌های پایه نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ:

بررسی شیب fEPSP های ثبت شده از ناحیه CA1 هیپوکامپ در پاسخ به تحریک کولترال‌های شافر نشان داد که میانگین شیب پاسخ ها در گروه کنترل ۱۷/۳۱±۴۸۰/۵۳ میلی ولت بر میلی ثانیه و در گروه یک ساعته۹/۹۹± ۳۷۷/۰۲، گروه دو ساعته ۶/۷۴± ۳۸۲/۰۵ و درگروه چهار ساعته ۱۵/۵۴±۳۹۳/۶۹ میلی ولت بر میلی ثانیه است. آزمون ANOVA دو سویه نشان داد که اختلاف شیب بین گروه‌ها معنی‌دار (P<۰/۰۰۰۱، $F_{۷/۱۹۹۲}$=۷۱/۲۸۸) است. همچنین پس آزمون Bonferroni نشان داد که اختلاف بین گروه‌های CO , 1h : CO , 2h و CO , 4h معنی‌دار است (P<۰/۰۰۰۱ برای همه مقایسه‌ها) (نمودار ۲).

ج) اثر مواجهه استرس صوتی در دوران جنینی بر القای LTP در دامنه‌ی fEPSP های ثبت شده از ناحیه CA1 هیپوکامپ:

تحریک تتانیک کولترال‌های شافر در هیپوکامپ موش‌های صحرایی در همه گروه‌های آزمایش منجر به افزایش در دامنه‌ی fEPSP ها گردید. با استفاده از آزمون ANOVA دوسویه هم مشخص شد که اختلاف قبل از القای تحریک تتانیک و بعد از آن در گروه کنترل (P<۰/۰۰۰۱) و گروه دو ساعته (P<۰/۰۰۳) معنی‌دار اما در گروه یک و چهار ساعته معنی‌دار نیست. با وجود اینکه از نظر آماری اختلاف دامنه قبل و بعد از القای LTP در گروه ۲ ساعته معنادار است، اما با توجه نمودار شماره ۳، چون میزان تقویت دامنه بعد از القای LTP به حد ۲۰٪ نرسیده است در نتیجه در این گروه LTP القا نشده است. همچنین پس آزمون Bonferroni که اختلاف بین گروه‌های CO , 1h : CO , 2h و CO , 4h معنی‌دار است (P<۰/۰۰۰۱) برای همه مقایسه‌ها) (نمودار ۳).

د) اثر مواجهه استرس صوتی در دوران جنینی بر القای LTP در شیب fEPSP های ثبت شده از ناحیه CA1 هیپوکامپ:

تحریک تتانیک کولترال‌های شافر در هیپوکامپ موش‌های صحرایی در همه گروه‌های آزمایش منجر به افزایش در شیب fEPSP ها گردید. با استفاده از آزمون ANOVA دوسویه مشخص شد که اختلاف قبل از القای تحریک تتانیک و بعد از آن در گروه کنترل (P<۰/۰۰۰۱) و گروه یک ساعته (P<۰/۰۱۷) و گروه دو ساعته در معرض سر و صدا (P<۰/۰۰۰۱) معنی‌دار اما در گروه چهار ساعته معنی‌دار نیست. علیرغم اینکه از نظر آماری اختلاف شیب قبل و بعد از القای LTP در گروه ۱ و ۲ ساعته معنادار است، اما با توجه نمودار شماره ۴، چون میزان تقویت شیب بعد از القای LTP به حد ۲۰٪ نرسیده است در نتیجه در این دو گروه LTP القا نشده است. هم چنین پس آزمون Bonferroni که اختلاف بین گروه‌های CO , 1h : CO , 2h و CO , 4h معنی‌دار است (P<۰/۰۰۰۱ برای همه مقایسه ها) (نمودار ۴).

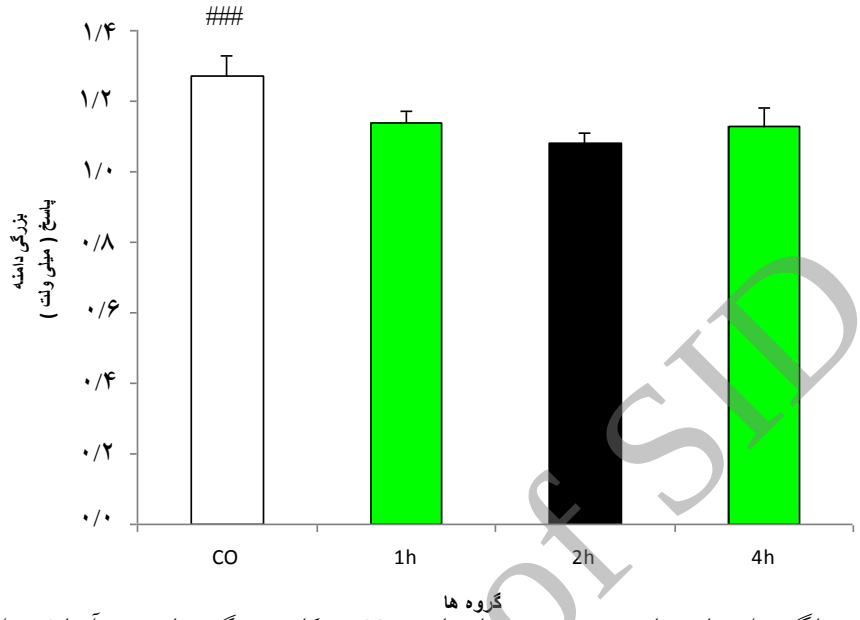
ه) میزان کورتیکواسترون سرم فرزندان نر:

مقایسه داده‌های حاصل از بررسی کورتیکوسترون سرم گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس ها نشان از وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه ها داشت (P<۰/۰۰۰۱ و F۳/۳۶ = ۱۲/۷۲۴). غلظت این هورمون در سرم حیواناتی که مادران آنها بارداری طبیعی را گذرانده بودند ۱۴/۱۵۶۹۵±۱۶۷/۰۵۷۵ نانو گرم در میلی‌لیتر بود. این در حالی بود که غلظت این هورمون در سرم فرزندان نر که در دوران جنینی روزانه دو و چهار ساعت در معرض صوت آزارنده قرار گرفته بودند، به ترتیب ۴۲/۸۷۳۲۵±۳۲۴/۷۵۴۳ (حدود دو برابر افزایش) و ۵۵/۸۵۶۷۱±۴۵۲/۵۱۳۷

Archive of SID

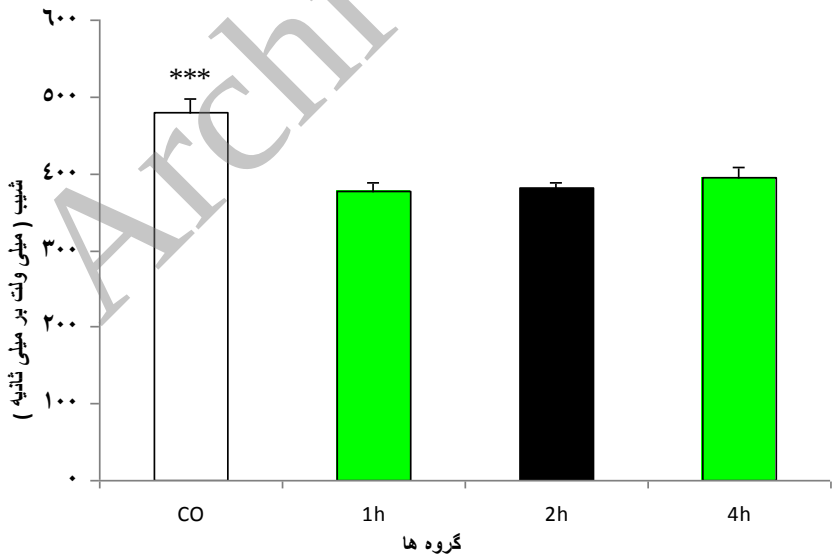
www.SID.ir

(تقریباً سه برابر افزایش) نانوگرم در میلی‌لیتر شد. نتایج پس آزمون Bonferroni هم نشان داد که بین گروه‌های 2h و کنترل (P=۰/۰۲۸) و همچنین گروه‌های 4h و کنترل اختلاف معنادار وجود دارد (P<۰/۰۰۰۱)، اما بین گروه یک ساعته و کنترل اختلاف معنادار نبود (نمودار ۵).



نمودار ۱. *مقایسه میانگین دامنه پاسخ پایه دندریت نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه‌های مورد آزمایش. داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف استاندارد میانگین نشان داده شده‌اند.*

###اختلاف دامنه بین گروه‌های CO , 1h، بین گروه‌های CO, 2h و همچنین بین گروه‌های CO, 4h معنی‌دار (P<۰/۰۰۰۱) بود.

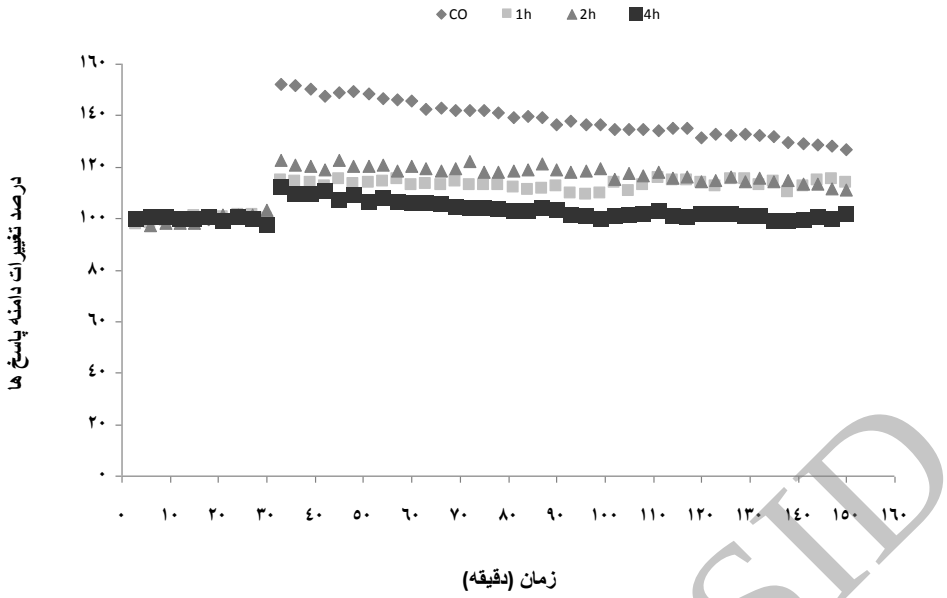


نمودار ۲. *مقایسه میانگین شیب پاسخ پایه دندریت نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه‌های مورد آزمایش. داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف استاندارد میانگین نشان داده شده‌اند.*

***اختلاف معنی‌دار بین گروه کنترل و یک ساعته ، بین گروه کنترل و دو ساعته و همچنین بین گروه کنترل و چهار ساعته (P<۰/۰۰۰۱) را نشان می‌دهد.

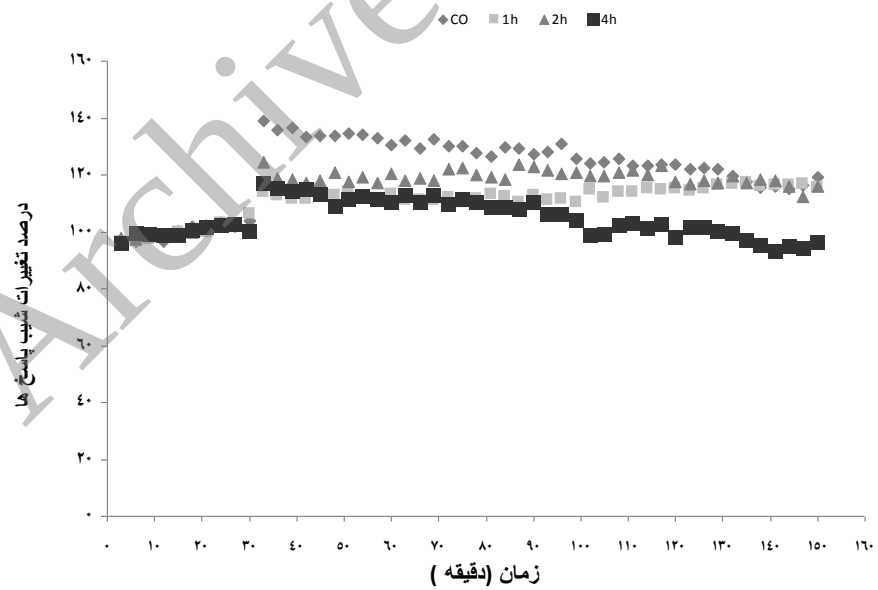
Archive of SID

www.SID.ir



نمودار ۳. *تغییرات ایجاد شده در دامنه fEPSP های ثبت شده از ناحیه CA1 هیپوکامپ متعاقب القای LTP در گروه‌های مورد آزمایش. پیکان زمان القای تحریک تتانیک را نشان می‌دهد.*

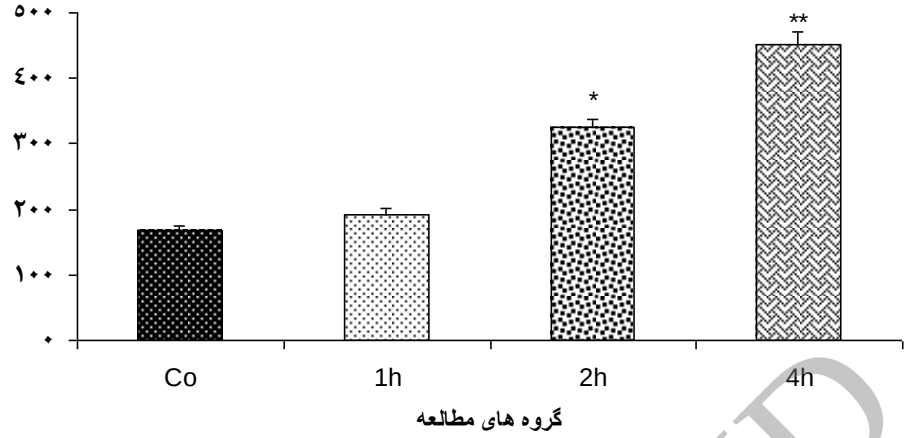
اختلاف بین گروه‌های CO اختلاف بین گروه‌های CO , 1h : CO , 2h و CO , 4h معنی‌دار است (P<۰/۰۰۰۱ برای همه مقایسه‌ها)



نمودار ٤. *تغییرات ایجاد شده در دامنه fEPSP های ثبت شده از ناحیه CA1 هیپوکامپ متعاقب القای LTP در گروه‌های مورد آزمایش. پیکان زمان القای تحریک تتانیک را نشان می‌دهد.*

*** اختلاف بین گروه‌های CO , 1h : CO , 2h و CO , 4h معنی‌دار است (P<۰/۰۰۰۱ برای همه مقایسه‌ها)

Archive of SID
www.SID.ir



نمودار ۵. *میزان کورتیکوسترون سرم خون گروه‌های مورد آزمایش.*

* و ** اختلاف معنی‌دار بین گروه کنترل و گروه‌هایی که مادران آنها روزانه دو ساعت (P=۰/۰۲۸) و چهار ساعت (P<۰/۰۰۰۱) در هفته آخر بارداری در معرض صوت بودند را نشان می‌دهد. داده ها به‌صورت Mean±SE نمایش داده شده است.

بحث

در این تحقیق تأثیر آلودگی صوتی بر روی شکل پذیری سیناپسی در نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاکی از این بود که قرار گرفتن در معرض سر و صدای آزارنده ترافیک در هفته سوم بارداری روزانه به میزان ۱ و ۲ و ۴ ساعت باعث کاهش در دامنه و شیب پاسخ‌های پایه و عدم القای LTP در نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ فرزندان نر بالغ می‌شود. با اندازه‌گیری کورتیکوسترون سرم هم مشخص گردید که در موش‌هایی که در معرض صدای آزارنده در روزهای آخر جنینی روزانه به میزان ۲ و ۴ ساعت قرار داشتند، میزان این هورمون به مراتب بیشتر از موش‌های کنترل است. اگرچه تکامل مغزی قبل از تولد متکی به پس زمینه ژنتیک است اما نتایج مطالعات نشان می‌دهند که محیط جنینی هم می‌تواند اثرات عمیقی بر روی تکامل مغزی در بلوغ داشته باشد (۱۰). هیپوکامپ یک ساختار مهم در حافظه بیانی، فضایی و ضمنی است. تشکیلات هیپوکامپ نسبت به آسیب‌هایی مثل تشنج، ایسکمی، تروما به سر و تا حدی اثرات گلوکوکورتیکوئیدهای غده فوق کلیه که در طول ریتم روزانه و استرس مزمن ترشح می‌شوند، حساس است. بدن نسبت به اثرات این هورمون ها در زمان کوتاه سازش پذیر است اما زمانی که استرس تکرار می‌شود و یا تنظیم محور HPA به هم می‌خورد، سیستم‌های مذکور دچار اختلال می‌شوند (۲۷). در برخی مطالعات عنوان شده است که استرس مانع از القای LTP در هیپوکامپ می‌شود (۲۸, ۲۹). بر اساس یکی از مطالعات، استرس مادر در طول دوران بارداری باعث تخریب زیرواحدهای NR2B و NR1 گیرنده‌های NMDA پس سیناپسی در هیپوکامپ و در نتیجه باعث تضعیف LTP در این ناحیه می‌شود. هم‌چنین، در مطالعه مذکور یادگیری و حافظه فضایی هم در فرزندان بالغ استرس دیده دچار اختلال شده بود (۱۰). گزارش شده که اختلال در حافظه فضایی به دنبال استرس، می‌تواند مرتبط با کاهش NCAMs (Neural – Cell-Adhesion-Molecule) در هیپوکامپ (پروتئین‌هایی که به صورت بحرانی درگیر در تکامل مغز جلویی و شکل‌پذیری سیناپسی هستند) باشد (۳۰). اثرات استرس بر روی نواحی مغز اغلب وابسته به

Archive of SID

www.SID.ir

طول مدت استرس (استرس حاد در مقابل استرس مزمن) و ساختار مورد بررسی است . برای مثال استرس مزمن باعث تغییر در مورفولوژی ناحیه CA3 (۳۱) و تضعیف نورون زایی در شکنج دندانه‌ای هیپوکامپ (۲۴) می گردد. به‌علاوه، مواجه شدن با استرس حاد باعث آمادگی ناحیه CA1 هیپوکامپ برای بروز اختلال در ثبت‌های الکتروفیزیولوژیک مثل LTP می‌شود (۲۸،۲۹،۳۲). نتایج مطالعات در مورد اثر کورتیکوسترون بر روی مورفولوژی نورون‌های ناحیه CA1 تا حدی بحث برانگیز است. در مطالعه ای به دنبال تجویز طولانی مدت ۷ روزه کورتیکوسترون، کاهش در تعداد خار و شاخه و طول دندریت ها در نورون‌های هرمی CA1 گزارش شده است (۳۳). در پژوهشی دیگر نیز افزایش در تراکم خار دندریتی در ناحیه CA1 متعاقب مواجهه با استرس فیزیکی حاد نشان شده است (۳۲). این در حالی است که در مطالعه دیگری با تجویز یک و ۷ روزه کورتیکوسترون کاهش تراکم خارهای نورون‌های هرمی گزارش شده است (۳۴). این اختلاف نظرها می‌تواند به علت تفاوت در روش‌های اندازه‌گیری باشد. از طرف دیگر نورون‌های ناحیه CA3 بیشتر تحت تأثیر CORT یا استرس در مقایسه با ناحیه CA1 قرار می‌گیرند (۳۶, ۳۵). نشان داده شده است که اختلال در مورفولوژی نورون های CA3 تا حدی منجر به تغییر در مورفولوژی نورون‌های CA1 هم می‌گردد (۳۷). در مطالعه ای بیان شده است که استرس مادر در دوران بارداری باعث کاهش فعالیت آنزیم ۱۱- بتا هیدروکسی استروئید دهیدروژناز تایپ ۲ (11β-HSD-2) جفتی می‌شود. از آنجایی که این آنزیم مسئول متابولیزه کردن کورتیزول به کورتیزون و غیر فعال کردن ۸۰ ٪ این هورمون در جنین می‌باشد، این می‌تواند توجیه کننده عواقب متعاقب استرس بارداری در دوران پس از تولد باشد (۳۱). مطالعات دیگر حاکی از اثرات استرس بر روی مکانیسم‌های ملکولی شکل پذیری سیناپسی هستند. در پژوهش‌های پیشین دیده شده که استرس، بیان پروتئین کیناز وابسته به کلسیم کالمودولین (CaMKII) که یک آنزیم حیاتی در القا LTP و تشکیل حافظه است را کاهش (۳۸،۳۹) و بیان کلسی نورین در هیپوکامپ موش صحرایی که مرتبط با تخریب LTP است، را افزایش می‌دهد (۳۸). مطالعات دیگر نشان داده‌اند که به دنبال استرس، بیان هیپوکامپی فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) کاهش می‌یابد (۴۰،۴۱). BDNF پروتئینی است که به منظور تشکیل سیناپس‌ها و شکل‌پذیری سیناپسی لازم است (۴۲). آمیگدال یکی از اجزای سیستم لیمبیک است که در تنظیم حافظه و رفتار مرتبط با استرس نقش دارد. کیم (Kim) و همکاران نشان دادند با تزریق آگونیست‌های گابا داخل آمیگدال قبل و در حین استرس و نه بلافاصله بعد از استرس، اثرات مخرب ناشی از استرس در القای LTP و حافظه فضایی مهار می‌شود. این نشان می‌دهد که فعالیت نورونی آمیگدال در طول استرس برای تغییر در حافظه و LTP هیپوکامپی لازم و ضروری است. در مطالعه مذکور LTP با وجود افزایش کورتیکوسترون، طبیعی گزارش شده است (۴۳). این در حالی است که تخریب LTP بدون بالارفتن سطح کورتیکوسترون در شرایط استرس‌زا (در موش‌های آدرنالکتومی شده) هم، در یک مطالعه گزارش شده است (۴۴).

گرچه در مطالعه حاضر اندازه‌گیری کورتیکوسترون سرم در پایان انجام آزمایش صورت گرفت و استرس جراحی وتحریک الکتریکی می نواند در افزایش سطح کورتیکوسترون سرم حیوانات تأثیرگذار باشد ولی چون در موش‌های گروه شاهد نیز که مادران آنها در دوره بارداری تحت تأثیر استرس صوتی قرار نگرفته بودند همین پروتکل اجرا شده بنابراین می توان بالاتر بودن سطح کورتیکوسترون حیوانات گروه آزمایش را به استرس صوتی وارده بر مادران آنها نسبت داد.

Archive of SID
www.SID.ir

نتیجه‌گیری

در مجموع می‌توان گفت که مواجه شدن مـوش‌هـای صحرایی با آلودگی صوتی در سه ماهه سوم بارداری منجر به تضعیف fEPSP های ثبت شده از مدارهای نورونی ناحیه CA1 هیپوکامپ و هم‌چنین ایجاد اختلال در القای LTP در مدارهای مذکور در فرزندان نر ۴۵ روزه آنها می‌گردد. بـا توجـه بـه اینکـه ایـن مواجهـه سـبب افـزایش سـطح کورتیکوسترون سرم خون در فرزندان می‌شـود و اثـرات مخرب کورتیکوسترون اضافی بر فرآیندهای یـادگیری و حافظه و نیز پدیده تقویت دراز مدت در مطالعات مختلـف نشان داده است، یکی از دلایل احتمالی اختلال مشاهده شده می‌تواند افزایش کورتیکوسترون سرم باشد.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی ۹۱۵۷ مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشـان اسـت، کـه بـدین وسـیله از زحمـات معاونت محترم سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. O'Connor TG, Heron J, Golding J, Beveridge M, Glover V. Maternal antenatal anxiety and children's behavioural/emotional problems at 4 years. Report from the Avon Longitudinal Study of Parents and Children. *Br J Psychiatry* 2002; 180: 502-8.
2. Coussons-Read ME, Lobel M, Carey JC, et al. The occurrence of preterm delivery is linked to pregnancy-specific distress and elevated inflammatory markers across gestation. *Brain Behav Immun* 2012; 26(4): 650-9.
3. Nishio H, Kasuga S, Ushijima M, Harada Y. Prenatal stress and postnatal development of neonatal rats--sex-dependent effects on emotional behavior and learning ability of neonatal rats. *Int J Dev Neurosci* 2001; 19(1):37-45.
4. King S, Laplante DP. The effects of prenatal maternal stress on children's cognitive development: Project Ice Storm. *Stress* 2005; 8(1):35-45.
5. Meaney MJ, Aitken DH, Van Berkel C, Bhatnagar S, Sapolsky RM. Effect of neonatal handling on age-related impairments associated with the hippocampus. *Science* 1988; 239(4841 pt1): 766-8.
6. Ogawa T, Mikuni M, Kuroda Y, Muneoka K, Mori KJ, Takahashi K. Periodic maternal deprivation alters stress response in adult offspring: potentiates the negative feedback regulation of restraint stress-induced adrenocortical response and reduces the frequencies of open field-induced behaviors. *Pharmacol Biochem Behav* 1994; 49(4): 961-7.
7. Vallee M, Mayo W, Maccari S, Le Moal M, Simon H. Long-term effects of prenatal stress and handling on metabolic parameters: relationship to corticosterone secretion response. *Brain Res* 1996; 712(2): 287-92.
8. Rogalska J. Mineralocorticoid and glucocorticoid receptors in hippocampus: their impact on neurons survival and behavioral impairment after neonatal brain injury. *Vitam Horm* 2010; 83: 391-419.
9. Bliss TV, Collingridge GL. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. *Nature* 1993; 361(6407): 31-9.
10. Son GH, Geum D, Chung S, Kim EJ, Jo J-H, Kim C-M, et al. Maternal stress produces learning deficits associated with impairment of NMDA receptor-mediated synaptic plasticity. J Neurosci 2006; 26(12): 3309-18.

Archive of SID

www.SID.ir

11. Yaka R, Salomon S, Matzner H, Weinstock M. Effect of varied gestational stress on acquisition of spatial memory, hippocampal LTP and synaptic proteins in juvenile male rats. *Behav Brain Res* 2007; 179(1): 126-32.

12. Lemaire V, Koehl M, Le Moal M, Abrous DN. Prenatal stress produces learning deficits associated with an inhibition of neurogenesis in the hippocampus. *Proc Natl Acad Sci* 2000; 97(20): 11032-7.

13. Yang J, Han H, Cao J, Li L, Xu L. Prenatal stress modifies hippocampal synaptic plasticity and spatial learning in young rat offspring. *Hippocampus* 2006; 16(5): 431-6.

14. Rabat A, Bouyer JJ, George O, Le Moal M, Mayo W. Chronic exposure of rats to noise: Relationship between long-term memory deficits and slow wave sleep disturbances. *Behav Brain Res* 2006; 171(2): 303-12.

15. Berglund B, Lindvall T, Schwela DH. Guidelines for community noise. Geneva, WHO, 1999.

16. Moudon AV. Real noise from the urban environment: how ambient community noise affects health and what can be done about it. *Am J Prev Med* 2009; 37(2): 167-71.

17. Mehdi MR, Kim M, Seong JC, Arsalan MH. Spatio-temporal patterns of road traffic noise pollution in Karachi, Pakistan. *Environ Int* 2011; 37(1): 97-104.

18. Ko JH, Chang SI, Kim M, Holt JB, Seong JC. Transportation noise and exposed population of an urban area in the Republic of Korea. *Environ Int* 2010: 37(2): 328-34.

19. Europe WROf. Night noise guidelines for Europe. WHO Regional Office Europe, 2009.

20. Barzegar M, Talaei SA, Salami M. The effects of prenatal sound stress on the spatial learning and memory of rat's male offspring. *Tehran Unv Med J* 2011; 68(10): 570-7.

21. Davari S, Talaei SA, Alaei H, Salami M. Probiotics treatment improves diabetes-induced impairment of synaptic activity and cognitive function: behavioral and electrophysiological proofs for microbiome-gut-brain axis. *Neuroscience* 2013; 240: 287-96.

22. Yang L, Pan Z, Zhou L, Lin S, Wu K. Continuously changed genes during postnatal periods in rat visual cortex. *Neurosci Lett* 2009; 462(2): 162-5.

23. Dallman MF, Akana SF, Bhatnagar S, Bell ME, Strack AM. Bottomed out: metabolic significance of the circadian trough in glucocorticoid concentrations. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000; 24: 40-6.

24. Manikandan S, Padma MK, Srikumar R, Jeya Parthasarathy N, Muthuvel A, Sheela Devi R. Effects of chronic noise stress on spatial memory of rats in relation to neuronal dendritic alteration and free radical-imbalance in hippocampus and medial prefrontal cortex. *Neurosci Lett* 2006; 399(1-2):17-22.

25. Li S, Cullen WK, Anwyl R, Rowan MJ. Dopamine-dependent facilitation of LTP induction in hippocampal CA1 by exposure to spatial novelty. *Nat Neurosci* 2003; 6(5): 526-31.

26. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates 4th ed., Academic press, 2007; pp33,36.

27. McEwen BS. Plasticity of the hippocampus: adaptation to chronic stress and allostatic load. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 933: 265-77.

28. Kim JJ, Song EY, Kosten TA. Stress effects in the hippocampus: synaptic plasticity and memory. *Stress* 2006; 9(1): 1-11.

29. Diamond DM, Campbell AM, Park CR, Halonen J, Zoladz PR. The temporal dynamics model of emotional memory processing: a synthesis on the neurobiological basis of stress-induced

Archive of SID

www.SID.ir

amnesia, flashbulb and traumatic memories, and the Yerkes-Dodson law. *Neural Plast* 2007; 60803.

30. Sandi C, Woodson JC, Haynes VF, Park CR, Touyarot K, Lopez-Fernandez MA, et al. Acute stress-induced impairment of spatial memory is associated with decreased expression of neural cell adhesion molecule in the hippocampus and prefrontal cortex. *Biol Psychiatry* 2005; 57(8): 856-64.
31. Weinstock M. The long-term behavioural consequences of prenatal stress. *Neurosci Biobehav Rev* 2008; 32(6): 1073-86.
32. Marian Joëls HJK. LTP after stress: up or down? Neural Plast. 2007;2007:93202.
33. Morales-Medina JC, Sanchez F, Flores G, Dumont Y, Quirion R. Morphological reorganization after repeated corticosterone administration in the hippocampus, nucleus accumbens and amygdala in the rat. *J Chem Neuroanat* 2009; 38(4): 266-72.
34. Hajszan T, Dow A, Warner-Schmidt JL, Szigeti-Buck K, Sallam NL, Parducz A, et al. Remodeling of hippocampal spine synapses in the rat learned helplessness model of depression. *Biol Psychiatr* 2009; 65(5): 392-400.
35. Magariños AMa, McEwen BS, Flügge G, Fuchs E. Chronic psychosocial stress causes apical dendritic atrophy of hippocampal CA3 pyramidal neurons in subordinate tree shrews. *J Neurosci* 1996; 16(10): 3534-40.
36. Magariños AM, Orchinik M, McEwen BS. Morphological changes in the hippocampal CA3 region induced by non-invasive glucocorticoid administration: a paradox. *Brain Res* 1998; 809(2): 314-8.
37. Lowy MT, Gault L, Yamamoto BK. Rapid Communication: adrenalectomy attenuates stress-induced elevations in extracellular glutamate concentrations in the hippocampus. *J Neurochem* 1993; 61(5): 1957-60.
38. Gerges NZ, Aleisa AM, Schwarz LA, Alkadhi KA. Reduced basal CAMKII levels in hippocampal CA1 region: Possible cause of stress-induced impairment of LTP in chronically stressed rats. *Hippocampus* 2004; 14(3): 402-10.
39. Lisman J, Schulman H, Cline H. The molecular basis of CaMKII function in synaptic and behavioural memory. *Nat Rev Neurosci* 2002; 3(3): 175-90.
40. Radecki DT, Brown LM, Martinez J, Teyler TJ. BDNF protects against stress-induced impairments in spatial learning and memory and LTP. *Hippocampus* 2005; 15(2): 246-53.
41. Duman RS, Monteggia LM. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol Psychiatry* 2006;59(12):1116-27.
42. Cohen-Cory S, Kidane AH, Shirkey NJ, Marshak S. Brain-derived neurotrophic factor and the development of structural neuronal connectivity. *Dev Neurobiol* 2010; 70(5): 271-88.
43. Kim JJ, Koo JW, Lee HJ, Han JS. Amygdalar inactivation blocks stress-induced impairments in hippocampal long-term potentiation and spatial memory. *J Neurosci* 2005; 25(6):1532-9.
44. Shors TJ, Levine S, Thompson RF. Effect of adrenalectomy and demedullation on the stress-induced impairment of long-term potentiation. *Neuroendocrinology* 1990; 51(1): 70-5.

Archive of SID

www.SID.ir

The Effect of Noise Pollution Exposure during Pregnancy on Long Term Potentiation Induction in Pyramidal Neurons of Hippocampus CA1 area in Male Rat Offsprings

Sajjadi F.S., B.Sc.[1], Talaei S.A., M.Sc.[2], Salami M., Ph.D.[3], Hamidi Gh., Ph.D.[4*]

1. M.Sc. Student of Physiology, Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran
2. Ph.D. Candidate, Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran
3. Professor of Physiology, Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran
4. Associate Professor of Physiology, Department of Physiology, School of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

* Corresponding author; E-mail: hamidi_gh@kaums.ac.ir

(Received: 13 May 2013 Accepted: 18 Sep. 2013)

Abstract

Background: It is believed that cognitive processing is easily disturbed by incompatible environmental stimulations. Many studies have shown that prenatal stress affects fetal brain development. The aim of this study was to evaluate the effect of noise pollution exposure during conception period on neural activity of hippocampus CA1 area in male rat offspring.

Methods: Four groups of rats including a control group with natural pregnancy and without any stress and three groups of pregnant rats exposed to daily noise stress (intensity >95 dB, between 8 A.M - 2 P.M) with durations of 1, 2 and 4 hour (s) in the last week of pregnancy were included in the study. Then, in male offsprings of these groups, fEPSP resulted from Schaffer collateral neurons of CA1 were recorded and evaluated in baseline state and after LTP induction with tetanic stimulation.

Results: Our results showed that prenatal exposure to traffic noise pollution at 3rd gestational week, reduces amplitude ($P<0.0001$) and slope of baseline synaptic activity in hippocampus CA1 area ($P<0.0001$) and furthermore interferes in hippocampal LTP in comparison with control group. The serum level of corticostrone in the two stressed groups (2 and 4 hours) of rats in comparison to the control showed significant increase. But, prenatal exposure to 1- hour noise pollution caused no significant difference in serum corticostrone level.

Conclusions: Based on the obtained results, daily exposure to noise pollution in the third trimester of pregnancy for 1, 2 and 4 hour (s), attenuates fEPSP features of hippocampus CA1 area pyramidal neurons of offsprings.

Keywords: Noise pollution, Pregnancy, Long-term potentiation, Hippocampus, Offspring, Rat

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2014; 21(4): 277-289

Archive of SID

www.SID.ir