مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان/ دوره پانزدهم/ بهار ۱۳۸۹/ ۱۸-۶

نقش گیرنده‌های ملاتونین در یادگیری فضائی موش‌های صحرائی تیمار شده با روشنائی

محمود سلامی[۱]، سید علیرضا طلائی زواره[۲]

۱- دکترای تخصصی فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۲- کارشناس ارشد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران تلفن: ۰۳۶۱-۵۵۵۲۹۹۹ (مؤلف مسؤول) talaei@kaums.ac.ir

خلاصه

زمینه و هدف: بسیاری از رفتارهای پستانداران بالغ محصول برهمکنش فعالیت‌های وابسته به ژنتیک و تجربه حسی در دوره بحرانی تکامل مغز است. هدف از انجام این مطالعه بررسی تقابل اثر ملاتونین، آنتاگونیست آن؛ لوزیندول و تیمار روشنائی بر فرآیندهای یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرایی در ماز آبی موریس است.

روش بررسی: با استفاده از ۶۰ رأس موش صحرائی نر ۴۵ روزه که به طور تصادفی در ۲ گروه توزیع شده بودند، این مطالعه تجربی انجام شد. گروه CO (Control) که حیوانات این گروه از بدو تولد تا پایان آزمایشات در شرایط تاریکی- روشنایی ۱۲-۱۲ ساعته قرار داشتند و گروه LR (Light Reared) که در روشنائی کامل رشد یافتند. هر گروه به سه زیر گروه کنترل، دریافت‌کننده ملاتونین و دریافت‌کننده لوزیندول تقسیم شد. با استفاده از ماز آبی موریس روند یادگیری و تثبیت حافظه حیوانات به مدت ۵ شب بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج این مطالعه نشان می‌دهند که در مرحله یادگیری حیوانات LR یادگیری کندتری دارند. همچنین، ملاتونین باعث کندتر شدن روند یادگیری موش‌های کنترل می‌گردد. لوزیندول باعث بهبود یادگیری موش‌های LR شد. تیمار روشنائی و ملاتونین بر تثبیت حافظه این حیوانات بی‌تأثیر بود و لوزیندول تنها باعث اختلال در تثبیت حافظه موش‌های کنترل گردید.

نتیجه‌گیری: تیمار روشنائی باعث ایجاد اختلال در روند یادگیری فضائی موش‌های صحرائی می‌شود و نیز ملاتونین، یادگیری فضائی حیوانات کنترل را با مشکل مواجه می‌کند. هیچ کدام از دو مداخله فوق بر روند تثبیت حافظه مؤثر نیستند.

کلید واژه‌ها: تیمار روشنائی، یادگیری و حافظه فضایی، ملاتونین، لوزیندول، موش صحرایی

وصول مقاله: ۸۸/۱۱/۲۰ اصلاحیه نهایی: ۸۹/۲/۱۵ پذیرش مقاله: ۸۹/۴/۲۲

مقدمه

دوره بحرانی تکامل مغز یک محدوده زمانی در اوان زندگی است (۱) که در آن، علاوه بر فرآیندهای وابسته به فعالیت ژن‌ها، تجربیات حاصل از برخورد با محیط نیز نقش مهمی در شکل‌گیری ارتباطات سیناپسی دارند (۳ و۲). نتایج برخی تحقیقات نشان می‌دهند که ایجاد تغییر در پیام‌های رسیده از محیط اطراف به دستگاه‌های حسی پستاندار در دوره بحرانی تکامل مغز، چه به صورت تقویت این پیام‌ها و چه به صورت حذف آنها، باعث ایجاد تغییر در نحوه شکل‌گیری و فعالیت ارتباطات سیناپسی می‌شود (۴). اکثر تحقیقات صورت گرفته در زمینه دوره بحرانی تکامل مغز پستانداران مربوط به بررسی آثار محرومیت از بینائی در این دوره، بر ساختار و عملکرد قشر بینائی است (۶ و۵). برای مثال، سلامی و همکاران نشان داده‌اند که محرومیت از بینائی باعث ایجاد تغییر در فعالیت کانال‌های NMDA قشر بینائی موش صحرائی شده و پاسخ نورن‌های این ناحیه نیز تغییر می‌یابد (۸ و۷). در اکثر پستانداران بیشترین

Archive of SID

www.SID.ir

تعامل حسی با محیط از طریق حس بینائی برقرار می‌شود و ثابت گردیده است که بخشی از پیام‌های بینائی پس از پردازش در قشر اولیه بینائی به طور مستقیم (۹) یا غیر مستقیم از طریق قشر انتورینال (۱۰) به تشکیلات هیپوکامپ می‌رسند.

پستانداران با استفاده از سیگنال‌های رسیده از محیط و به ویژه سیگنال‌های بینائی، سعی در یادگیری و به خاطر سپردن یک موقعیت در فضا، یا موقعیت بدن خود در فضای اطراف می‌نمایند (۱۱) و تشکیلات هیپوکامپ که در قشر تمپورال تحتانی واقع شده است، در انجام این فرآیندها نقش به سزائی دارد (۱۲). همانند قشرهای حسی، برای هیپوکامپ نیز یک دوره بحرانی تکامل در نظر گرفته شده (۱۳) و نتایج برخی مطالعات حاکی از این است که تغییر در تجربه حسی در دوران بحرانی تکامل هیپوکامپ بر ساختار و عملکرد آن در دوران بلوغ مؤثر است (۱۵و۱۴). Waters و همکارانش نشان داده‌اند که تغییر در سیگنال‌های حسی رسیده از محیط اطراف موش صحرائی در دوره بحرانی تکامل مغز این حیوان، باعث ایجاد تغییر در پاسخ‌های نورن‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ می‌شود (۱۳).

تیمار روشنائی یا نگهداری حیوانات در روشنائی کامل به صورت شبانه روزی باعث ایجاد تغییر در ریتم‌های سیرکادین (شبانه روزی) شده و بالتبع ریتم ترشح هورمونهای سیرکادین مثل ملاتونین (هورمون مترشحه از غده پینه آل) دستخوش تغییر می‌گردد (۱۶). بیشترین مقدار ترشح این هورمون در ساعات تاریکی شبانه روز است و ایمپالس‌های نور به سرعت ترشح آن را بلوکه می‌کنند (۱۷). به دلیل اینکه ملاتونین دارای خاصیت چربی دوستی است، به سرعت در سلول‌ها جذب شده و به راحتی از سد خونی مغزی عبور می‌کند (۱۸) و آثار خود را از طریق دو گیرنده وابسته به خانواده گیرنده‌های متصل شونده به پروتئین‌های G به نام MT1 و MT2 اعمال می‌نماید (۱۹). حضور این دو گیرنده در نواحی درگیر در یادگیری و حافظه؛ به ویژه هیپوکامپ پستانداران با انجام مطالعات زیادی به اثبات رسیده است (۲۲-۲۰). در مورد تأثیر ملاتونین بر فرآیندهای یادگیری و حافظه فضائی، گزارشات ضد و نقیضی در دست است. برخی تأثیرات مثبت این هورمون بر فرآیندهای مذکور را گزارش کرده‌اند (۲۴و۲۳) و برخی دیگر اثرات تضعیف‌کننده آن را گزارش کرده‌اند (۲۷و۲۵). برای مثال، Sharma و همکارانش با انجام یک مطالعه روی موشهای صحرائی به این نتیجه رسیدند که پیش درمانی با ملاتونین می‌تواند از اختلال ایجاد شده در حافظه فضائی به واسطه تزریق داخل بطن مغزی استرپتوزوسین، جلوگیری کند (۲۸). Ozdemir و همکارانش نیز نشان دادند که ملاتونین می‌تواند از مرگ سلول‌های هیپوکامپ متعاقب ضربه مغزی جلوگیری کرده و حافظه فضائی را بهبود بخشد (۲۴). این در حالی است که Soto-Moyano و همکارانش نشان دادند که ملاتونین می‌تواند باعث ایجاد اختلال در عملکرد فضائی موش‌های صحرائی در ماز شعاعی شود (۲۶). Gonenc و همکارانش نیز بیان می‌دارند که اگرچه ملاتونین به تنهائی باعث بهبود عملکرد موشهای صحرائی در ماز آبی موریس می‌شود، ولی نمی‌تواند از اختلال ایجاد شده در حافظه فضائی توسط اتانول جلوگیری کند (۲۹).

تاکنون چندین آنتاگونیست برای گیرنده‌های ملاتونین معرفی شده‌اند و لوزیندول (۲-بنزیل-N-استیل تریپتامین) یکی از آنهاست که به صورت غیر انتخابی هر دو گیرنده ملاتونین را مسدود کرده و تمایل آن برای بلوکه کردن MT2 اندکی بیشتر است (۳۰). پیشنهاد شده

Archive of SID

www.SID.ir

است که لوزیندول می‌تواند با ایجاد برخی از آثار ملاتونین روی فرآیندهای یادگیری و تثبیت حافظه مخالفت کند. به عنوان مثال، نتایج مطالعه Wang و همکارانش حاکی از این است که لوزیندول می‌تواند اثر مهاری ملاتونین بر تشکیل LTP (Long Term Potentiation) در نورون‌های ناحیه هیپوکامپ را بلوک کند (۳۱). با توجه به موارد ذکر شده، هدف اول از انجام این مطالعه بررسی تأثیر تیمار روشنائی در دوران بحرانی تکامل مغز موش صحرائی، بر روند یادگیری و تثبیت حافظه فضائی این حیوانات است و هدف دوم مطالعه بررسی تقابل اثر تیمار روشنائی، ملاتونین و آنتاگونیست گیرنده‌های آن؛ لوزیندول بر فرآیندهای یادگیری و تثبیت حافظه فضائی موش‌های صحرائی در ماز آبی موریس است.

روش بررسی

حیوانات

این مطالعه تجربی روی ۶۰ سر موش صحرایی نر ۴۵ روزه نژاد ویستار با محدوده وزنی ۱۶۰ تا ۱۸۰ گرم انجام شد. حیوانات به طور تصادفی به ۲ گروه آزمایشی تقسیم شدند: گروه کنترل (CO)؛ موش‌هایی که از بدو تولد تا زمان آزمایش در شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی پرورش یافتند. گروه تیمار شده با روشنائی (Light Reared; LR)؛ موش‌هایی که از بدو تولد تا پایان دوره آزمایش در طول شبانه‌روز در روشنائی کامل پرورش یافتند و حیوانات هر گروه به نوبه خود در ۳ زیر گروه (n=10) وارد شدند: حیواناتی که هیچگونه دارویی دریافت نمی‌کردند (CO, LR)، حیواناتی که ملاتونین دریافت کرده (COM, LRM) و حیواناتی که لوزیندول دریافت می‌کردند (COL, LRL). شایان ذکر است که حداکثر ۲ فرزند نر حاصل از یک حاملگی انتخاب شده و وارد گروه‌ها می‌شدند. آب و غذا به طور آزاد و به مقدار کافی در اختیار حیوانات قرار داشت. دمای محل نگهداری حیوانات ۲۲±۲°C و رطوبت هوا ۵۵±۵٪ بود. اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی مطابق با معاهده هلسینکی و توافق نامه کمیته اخلاق معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان رعایت گردیدند.

داروها

ملاتونین و لوزیندول از شرکت Sigma-Aldrich کشور آمریکا خریداری گردیدند. برای آماده سازی محلول ملاتونین، ابتدا ۵۰۰ میلی گرم پودر ملاتونین در ۲ میلی لیتر اتانول ۹۹/۹ درصد (Merck, Germany) حل شده و سپس به آن ۹۸ میلی‌لیتر نرمال سالین اضافه گردید. در نهایت هر میلی‌لیتر محلول حاوی ۵ میلی‌گرم ملاتونین بود. محلول لوزیندول نیز با اضافه کردن نرمال سالین به ویال حاوی پودر آن آماده شد. حجم نهائی محلول به گونه‌ای تنظیم شد که هر میلی‌لیتر آن حاوی ۰/۵ میلی‌گرم لوزیندول باشد.

ماز آبی موریس

ماز آبی موریس که امروزه به طور گسترده در تحقیقات مربوط به یادگیری و تثبیت حافظه فضائی مورد استفاده قرار می‌گیرد، یک تانک آب با قطر ۱۵۰ و عمق ۷۰ سانتیمتر است که تا ارتفاع ۵۰ سانتی‌متری آن از آب پر می‌شود. ماز به طور فرضی به چهار ربع مساوی شمالی، جنوبی، شرقی و غربی تقسیم شده و یک سکوی نجات در وسط یکی از این چهار ربع قرار می‌گیرد؛ به طوری که حدود ۱/۵ سانتی‌متر زیر سطح آب واقع می‌شود و از بیرون قابل دیدن نیست. حرارت آب در

Archive of SID

www.SID.ir

حدود ۲۲-۲۰ درجه سانتیگراد تنظیم می‌شود. ماز در اتاقی قرار می‌گیرد که در آن علائم فضایی مختلفی وجود دارد که در طول آزمایشات ثابت بوده و برای حیوان در ماز قابل دید است. این مجموعه از طریق یک دوربین ردیاب که در ارتفاع ۱۸۰ سانتیمتری و در بالای مرکز ماز آبی قرار گرفته است، مونیتور شده و از طریق اتصال به کامپیوتر اطلاعات مربوط به آزمایش در حال انجام، ذخیره می‌گردد. جهت انجام، ثبت و آنالیز بعدی داده‌های حاصل از آزمایش از نرم افزار اختصاصی "ردیاب ۱، ویرایش ۷" که توانایی پذیرش تنظیمات مختلف برای آزمایشات مختلف در ماز آبی را دارد، استفاده شد.

مراحل انجام آزمایش

الف- مرحله یادگیری یا آموزش:

طی این مرحله، حیوان از یکی از سمت‌های چهارگانه ماز در حالی که روی آن به طرف دیواره ماز بود، در آب، رها می‌شد. (لازم به ذکر است که انتخاب ناحیه شروع آزمایش به طور تصادفی بوده و به وسیله برنامه نرم افزاری پیشنهاد می‌گردید.) با توجه به اندازه ماز و نوع حیوان (موش صحرایی) حداکثر زمان آزمایش۹۰ ثانیه در نظر گرفته شد. حیوان پس از رها شدن در آب شروع به شنا می‌کند. به طور معمول در جلسات اولیه آزمایش، حیوان برای فرار از آب در کناره دیواره ماز به شنا می‌پردازد اما، به مرور در جلسات بعدی به بخش‌های میانی تر نیز وارد می‌شود. به هر حال اگر حیوان به طور اتفاقی سکوی پنهان مخفی در زیر آب را پیدا می‌کرد روی آن قرار می‌گرفت. در این صورت به حیوان اجازه داده می‌شد تا به مدت ۱۵ ثانیه روی سکو بماند و با جستجوی اطراف و دیدن علائم موجود در آزمایشگاه موقعیت خود را شناسایی کند. این موضوع به حیوان کمک می‌کند تا در جلسات بعدی آزمایش با استفاده از علائم بینایی موجود در اتاق محل آزمایش، جایگاه سکو را پیدا نماید. لازم به ذکر است که هم علائم فضایی موجود در محل آزمایش و هم موقعیت سکو در یکی از چهار قسمت ماز، در طول آزمایشات ثابت بود. در هر صورت اگر در مدت ۹۰ ثانیه موش نمی‌توانست سکو را پیدا کند، آزمایش کننده حیوان را به آرامی به سوی سکو هدایت می‌کرد تا اینکه موش سکو را یافته و برای ۱۵ ثانیه روی آن قرار گیرد؛ این پدیده معمولاً در اولین جلسات آزمایش اتفاق می‌افتد. پس از گذشت این زمان، حیوان از سکو برداشته شده و بعد از خشک شدن با یک حوله به قفس خود برگردانده می‌شد. پس از ۱۰ دقیقه آزمایش مجدداً تکرار می‌گردید؛ با این تفاوت که محل رها شدن موش در ماز نسبت به مرحله قبل متفاوت بود. هر موش ٤ جلسه روزانه با فاصله ۱۰ دقیقه‌ای را تجربه می‌کرد. در مجموع این مرحله از آزمایش به مدت ۵ روز طول کشید که طی آن ۲۰ جلسه آزمایش روی حیوانات انجام گردید. داده‌های مربوط به مدت زمان سپری شده در ماز توسط حیوان به منظور یافتن سکوی پنهان استخراج شده و آنالیز شدند. لازم به ذکر است که حیوانات دریافت کننده دارو، ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایشات روزانه، مقدار ۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ملاتونین یا ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن لوزیندول به صورت درون صفاقی دریافت می‌کردند.

ب- مرحله باز خوانی یا پروب (Probe trial):

بلافاصله پس از تکمیل مرحله اول، مرحله بعد انجام گردید. در این مرحله (با توجه به اینکه حیوان محل سکوی پنهان را می‌داند) سکو از ماز برداشته شده و آزمایش انجام می‌شد. در این مرحله از آزمایش این

Archive of SID

www.SID.ir

نکته مورد توجه قرار گرفت که موش در حین آزمایش (که قاعدتاً قادر به یافتن سکو نیست) بیشترین وقت خود را در کدامیک از قسمتهای چهارگانه ماز گذرانده است. به عنوان مثال، اگر بیشترین زمان مربوط به قسمتی بود که قبلاً سکو در آن بوده است، روشن می‌شد که حیوان بر اساس علائم بینایی- فضایی خارج از ماز سکو را پیدا می‌کرده است و نه به طور اتفاقی و یا به دلیل دیدن سکو در زیر آب. لازم به ذکر است که در این مرحله از آزمایش هر جلسه الزاماً ۹۰ ثانیه طول کشید و به دلیل عدم وجود سکو پس از پایان مدت، موش از ماز برداشته می شد. این مرحله از آزمایش برای هر موش یک بار انجام گردید و مدت زمان سپری شده در ربع صحیح ماز (که در مرحله قبل واجد سکو بود) معیار میزان یادگیری و یادآوری قرار گرفت.

نتایج به دست آمده از آزمایشات مرحله یادگیری با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۷ و با روش آماری Repeated measure ANOVA مقایسه گردیدند. برای نشان دادن ساده‌تر و درک بهتر رفتار حیوانات در دو گروه مورد آزمایش، میانگین رفتار حیوانات طی ٤ جلسه روزانه در شکل ها به صورت یک نقطه نمایش داده شده است. همچنین داده‌های مربوط به مرحله پروب با استفاده از آماره One-way ANOVA و پس آزمون Bonferroni مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقدار P کوچکتر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها

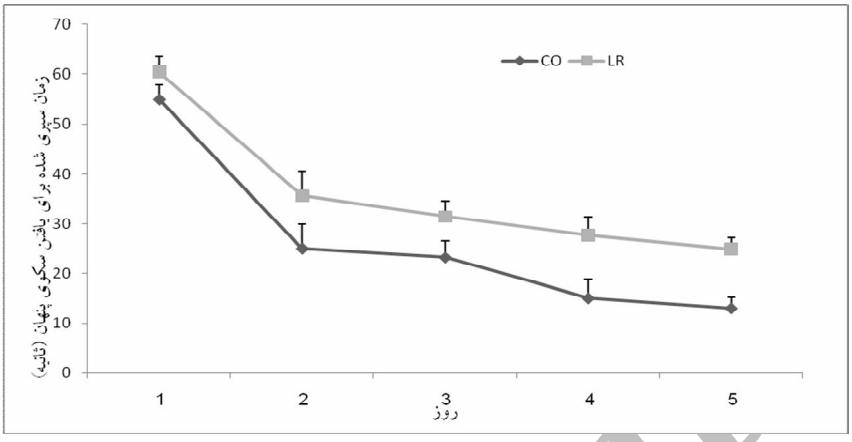
۱- مرحله یادگیری

الف- تأثیر تیمار روشنائی بر یادگیری

با مطالعه داده‌های جمع‌آوری شده از مجموع ۵ روز آموزش حیوانات در ماز آبی موریس و با توجه به معنی‌دار بودن (P<۰/۰۰۱) آزمون کرویت موخلی (Mauchly's test of sphericity)، نتایج آزمون Greenhouse-Geisser نشان داد که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین مدت زمان سپری شده برای یافتن سکو در روزهای مختلف در همه گروه‌ها وجود دارد (F17.108, 800.647=5.607; P<۰/۰۰۱)؛ یعنی، همانگونه که در نمودار ۱ نشان داده شده است، همزمان با پیشرفت روزانه مراحل یادگیری، حیوانات هر دو گروه محل سکوی پنهان را آموخته و مدت زمان کمتری را صرف یافت سکو می‌کردند. نتایج مقایسه بین گروهی نیز نشان می‌دهد که اختلاف بین گروه‌ها معنی‌دار است ($F_{5, 234}$= 17.377; P<۰/۰۰۱). با توجه به نمودار می‌توان دریافت که موش‌های گروه کنترل یادگیری به مراتب بهتری را نسبت به موش‌های تیمار شده با روشنائی از خود نشان دادند و نتایج آزمون تعقیبی Bonferroni نیز بیانگر آن است که اختلاف بین دو گروه معنی‌داراست (P=۰/۰۴۵).

Archive of SID

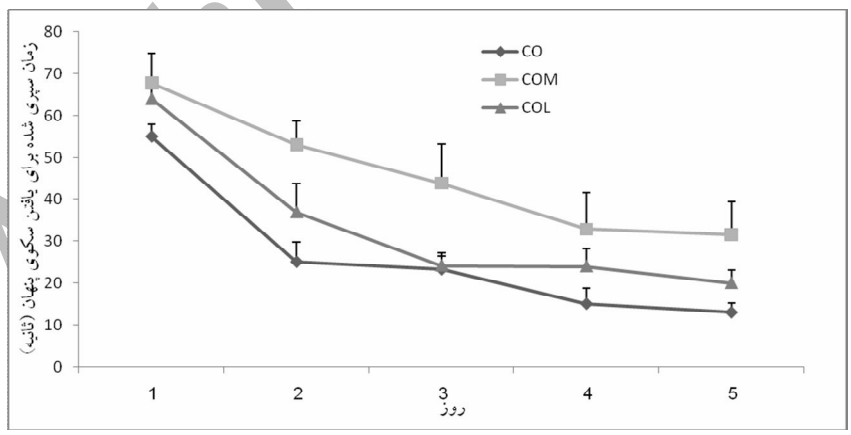
www.SID.ir



نمودار ۱: مدت زمان لازم جهت یافتن سکوی پنهان توسط حیوانات هر دو گروه مورد مطالعه در روزهای مختلف آزمایش. داده‌ها به صورت میانگین± انحراف میانگین استاندارد حاصل از مجموع جلسات انجام شده برای حیوانات هر گروه طی یک روز نمایش داده شده‌اند. روند بهبود یادگیری در هر دو گروه به خوبی نمایان است و همچنین اختلاف بین دو گروه در مدت زمان سپری شده برای یافتن سکو معنی‌دار است.

ب- تأثیر ملاتونین و لوزیندول بر یادگیری موش های گروه کنترل

یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهند که تجویز ملاتونین ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایشات روزانه موجب ایجاد اختلال در روند یادگیری حیوانات گروه کنترل می‌گردد؛ بدین نحو که موشهای این گروه مدت زمان بیشتری را صرف یافتن سکوی پنهان می‌نمایند (P=۰/۰۰۱). همچنین، با توجه به نمودار ۲ می‌توان دریافت که تجویز لوزیندول بر روند یادگیری حیوانات بی‌تأثیر است (P=۰/۵۶۲).

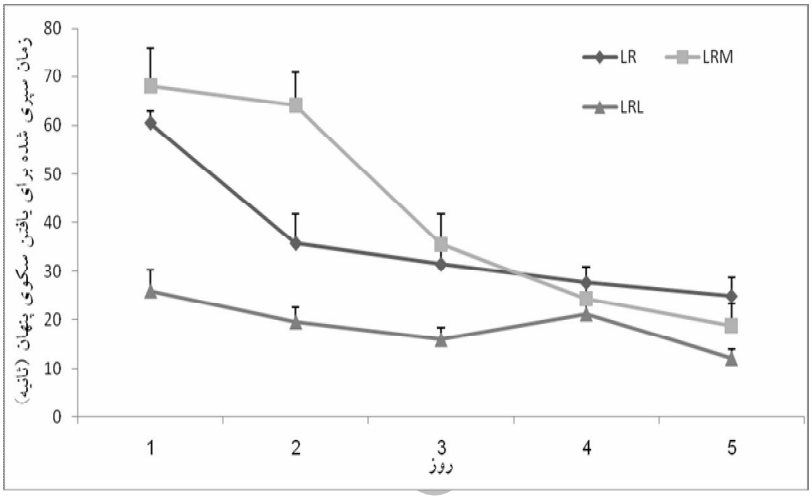


نمودار ۲: تأثیر ملاتونین و لوزیندول بر روند یادگیری موشهای گروه کنترل در روزهای مختلف آزمایش. داده‌ها به صورت میانگین± انحراف میانگین استاندارد حاصل از مجموع جلسات انجام شده برای حیوانات هر گروه طی یک روز نمایش داده شده‌اند. اختلاف بین گروه‌های CO و COM معنی‌دار است (P=۰/۰۰۱).

www.SID.ir

ج- تأثیر ملاتونین و لوزیندول بر یادگیری موش‌های تیمار شده با روشنائی

آنالیز آماری داده‌های مربوط به حیوانات تیمار شده با روشنائی حاکی از این است که تجویز ملاتونین ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایشات روزانه بر روند یادگیری موش‌های تیمار شده با روشنائی بی‌تأثیر است (نمودار ۳). همچنین تزریق داخل صفاقی لوزیندول در این حیوانات باعث بهبود یادگیری این حیوانات شده است ($P<۰/۰۰۱$).



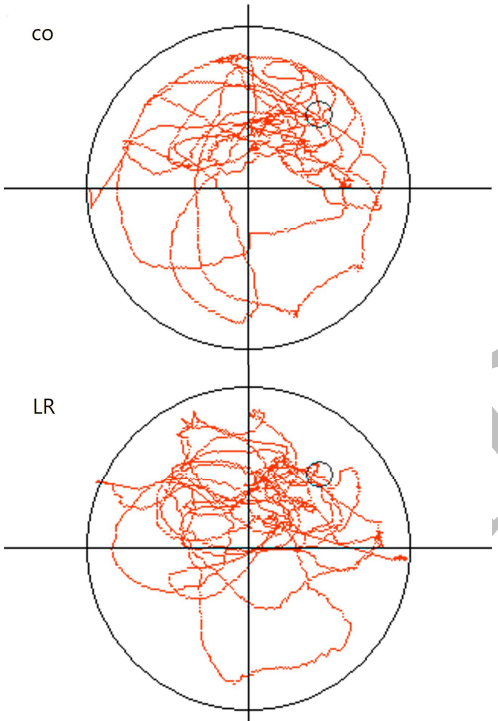
نمودار ۳: تأثیر ملاتونین و لوزیندول بر روند یادگیری موشهای گروه تیمار شده با روشنائی در روزهای مختلف آزمایش. داده‌ها به صورت میانگین± انحراف میانگین استاندارد حاصل از مجموع جلسات انجام شده برای حیوانات هر گروه طی یک روز نمایش داده شده‌اند. تجویز لوزیندول باعث بهبود یادگیری حیوانات تیمار شده با روشنائی شد و اختلاف بین گروه‌های LR و LRL معنی‌دار است (P<۰/۰۰۱).

۲- مرحله بازخوانی (پروب)

در این مرحله مدت زمانی که حیوان در ربع دارای سکو در مرحله قبل گذراند، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از مقایسه بین گروه‌ها با آزمون آنالیز واریانس بیانگر این مطلب است که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های آزمایش شده وجود دارد. ($F_{5, 59}= 7.337$; $P<۰/۰۰۱$). با توجه به نتایج آزمون تعقیبی Bonferroni می‌توان دریافت که تفاوت بین دو گروه CO و LR از نظر مدت زمان یافتن محل سکوی پنهان معنی‌دار نیست. شکل ۱ نمای شماتیک ترسیم شده از مسیر حرکت حیوانات دو گروه CO و LR در مرحله پروب توسط نرم افزار "ردیاب" را نشان می‌دهد.

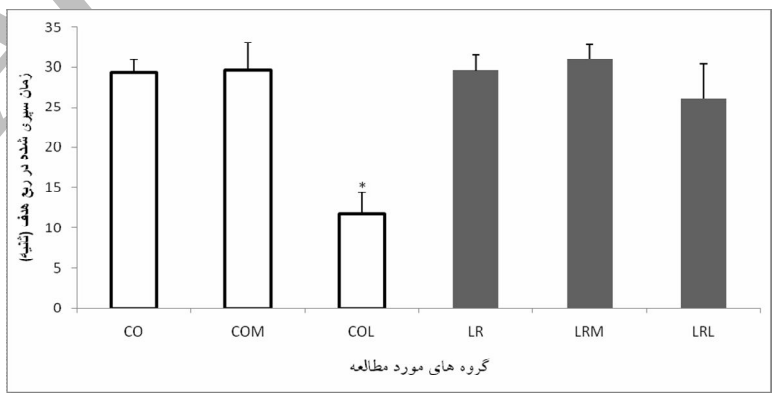
Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱: نمای شماتیک مسیر حرکت حیوانات در ماز آبی موریس در مرحله پروب که توسط نرم افزار "ردیاب" ترسیم شده است. دایره بزرگ محدوده تانک ماز، دایره کوچک محل قرارگیری سکوی پنهان در مراحل قبل و دو خط عمود بر هم در هر دایره بزرگ نحوه تقسیم بندی ماز به ۴ ربع فرضی را نشان می‌دهند.

تجویز لوزیندول باعث ایجاد اختلال در روند تثبیت حافظه فضائی موشهای گروه کنترل می‌گردد؛ به نحوی که این موشها مدت زمان کمتری را در ربع هدف می‌گذرانند (P=۰/۰۰۱) و این در حالی است که تجویز ملاتونین بر این روند بی‌تأثیر است (P=۱). همچنین، با مراجعه به نمودار ۴ می‌توان دریافت که تزریق داخل صفاقی ملاتونین و لوزیندول بر روند تثبیت حافظه فضائی موش‌های تیمار شده با روشنائی بی‌تأثیر است (اختلاف بین گروه LR با LRM و LRL به ترتیب P=۰/۱۳۲ و P=۰/۴۷۳).



نمودار ۴: مدت زمانی که موش‌های گروه‌های آزمایش در مرحله بازخوانی اطلاعات آموخته شده برای یافتن سکوی پنهان (برداشته شده) صرف کردند. داده‌ها به صورت میانگین± انحراف میانگین استاندارد نمایش داده شده است. * اختلاف بین گروه‌های CO و COL؛ P=۰/۰۰۱

Archive of SID
www.SID.ir

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تیمار روشنائی، منجر به ایجاد اختلال در روند یادگیری فضایی موش‌های صحرایی می‌شود؛ بدین معنی که موش‌های این گروه به منظور یافتن سکوی پنهان زمان بیشتری را در ماز سپری کردند. همان طور که در بخش نتایج آمده است، تجویز ملاتونین باعث کند شدن روند یادگیری موش‌های گروه کنترل می‌شود و بر عملکرد موش‌های تیمار شده بی‌تأثیر است. از طرف دیگر، لوزیندول بر روند یادگیری حیوانات گروه کنترل بی‌تأثیر است و باعث بهبود عملکرد موش‌های نگهداری شده در روشنائی می‌شود. به علاوه، تیمار روشنائی در روند تثبیت حافظه موش‌های صحرائی تأثیری ندارد و لوزیندول باعث ایجاد اختلال در تشکیل حافظه موشهای گروه کنترل می‌شود.

تغییر در سیکل‌های شبانه روزی می‌تواند باعث ایجاد اختلال در ریتم ترشح هورمون‌های سیرکادین مثل ملاتونین شود (۱۶). گزارش شده است که طولانی‌تر شدن دوره‌های روشنائی در طول شبانه روز منجر به کاهش ترشح ملاتونین می‌شود (۲۶). نتایج حاصل از مطالعه ما حاکی از این بود که تیمار کردن حیوانات با روشنائی کامل از بدو تولد تا ۴۵ روزه‌گی؛ یعنی زمانی که سیستم عصبی موش‌های صحرائی به بلوغ کامل می‌رسد (۳۲) و نیز تجویز ملاتونین برای حیوانات گروه کنترل باعث ایجاد اختلال در روند یادگیری فضائی این حیوانات می‌شود. برخی مطالعات آثار تضعیف‌کننده ملاتونین بر عملکردهای یادگیرانه و تثبیت حافظه را گزارش می‌کنند (۲۷-۲۵). Soto-Moyano و همکارانش بیان می‌دارند که تجویز درون صفاقی ملاتونین با دوزهای ۰/۱ تا ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت روزانه باعث ایجاد اختلال در یادگیری بینائی- فضائی موش‌های صحرائی در ماز آبی موریس می‌شود (۲۶). نتایج یک مطالعه دیگر حاکی از این است که تجویز ملاتونین باعث ایجاد اختلال در یادگیری موش‌های صحرائی در ماز آبی موریس می‌شود. به علاوه، این دانشمندان نشان داده‌اند که ملاتونین می‌تواند مانع از القای LTP در ناحیه CA1 هیپوکامپ شود (۳۳). همچنین، Gonenc و همکارانش نشان دادند که تجویز درون صفاقی دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ملاتونین نمی‌تواند از اختلال ایجاد شده در حافظه فضائی موش‌های صحرائی توسط اتانول جلوگیری کند (۲۹). Tang و همکارانش نیز مشاهده کردند که تجویز خوارکی ملاتونین نمی‌تواند مانع از ایجاد اختلال در حافظه فضائی توسط بیماری آلزایمر شود (۳۴). یک نتیجه غیر قابل پیش بینی حاصل از مطالعه ما این بود که ملاتونین نتوانست بر روند یادگیری موش‌های LR تأثیر بگذارد؛ چرا که انتظار این بود که با توجه به اینکه نگهداری حیوانات در روشنائی باعث افت کردن غلظت ملاتونین سرم می‌شود (۱۶) و در نتیجه گیرنده‌های ملاتونین افزایش می‌یابند، ملاتونین برونزاد بر روند یادگیری و حافظه این حیوانات تأثیرگذار باشد، اما اینچنین نشد. نکته جالب دیگر اینکه لوزیندول بر یادگیری حیوانات گروه کنترل بی‌تأثیر بود، اما، باعث بهبود عملکرد حیوانات LR شد. این یافته می‌تواند تاکیدی بر این موضوع باشد که در نتیجه کاهش غلظت ملاتونین در سرم به طور پیوسته و به مدت ۴۵ روز، بر تعداد و حساسیت گیرنده‌های ملاتونین افزوده می‌شود. از طرف دیگر با توجه به آثار مخربی که برای ملاتونین بر یادگیری حیوانات ذکر شد، انتظار می‌رفت حیوانات تیمار شده با روشنائی عملکرد بهتری نسبت به گروه

Archive of SID

www.SID.ir

کنترل داشته باشند، که این نتیجه نیز حاصل نشد. نشان داده شده است که تغییر در تجربه بینائی به صورت کاهش ساعات دریافت نور باعث ایجاد اختلال در ساختار گیرنده‌های NMDA که امروزه نقش آنها در فرآیندهای حافظه و یادگیری کاملاً محرز است (۳۶ و ۳۵) می‌گردد (۳۸ و۳۷). شاید تغییر در تجربه حس بینائی به صورت افزایش ساعات دریافت نور نیز باعث ایجاد اختلال در ساختار و عملکرد این گیرنده‌ها و گیرنده‌های ملاتونین شده باشد.

در حالی که نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که عملکرد موش‌های LR در ماز نسبت به گروه کنترل به مراتب ضعیف‌تر بود، برخی مطالعات نشان می‌دهند که غنی‌سازی محیط زندگی (Environmental Enrichment) حیوانات آزمایشگاهی (فراهم کردن شرایطی که منجر به افزایش تحریک سیستم‌های حسی، شناختی و حرکتی حیوان شود) باعث بهبود روند یادگیری فضایی در ماز آبی موریس می‌شود (۴۱-۳۹). برای مثال، Workman و همکارانش بیان می‌دارند که کوتاه شدن ساعات مواجهه با نور باعث ایجاد اختلال در روند یادگیری فضائی موش‌ها می‌شود و با غنی سازی محیط اطراف این حیوانات می‌توان این اختلال را درمان کرد. آنها همچنین نشان داده‌اند که افزایش سیگنال‌های حسی رسیده از محیط، باعث افزایش تعداد خارهای دندریتی در این حیوانات می‌شود (۴۱). اگرچه افزایش ساعات دریافت نور در طول شبانه روز را می‌توان نوعی از غنی سازی محیط تلقی کرد، با این حال شاید مکانیسم تأثیرگذاری پیام‌های بینایی بر نحوه پردازش اطلاعات در هیپوکامپ متفاوت از پیام های لمسی، شنیداری و ... باشد که این موضوع نیز مطالعات بیشتری را می‌طلبد.

در مورد عملکرد ملاتونین در حافظه و القای آن، گزارشات ضد و نقیضی موجود است. در حالی که برخی مطالعات از اثر تسهیل کننده ملاتونین بر القای حافظه در مغز سخن گفته‌اند (۴۲)، برخی دیگر نشان می‌دهند که ملاتونین، مانع از القای LTP در برش‌های تهیه شده از مغز می‌شود (۴۳ و۳۱ و۲۶). نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد که ملاتونین بر روند تثبیت حافظه هر دو گروه بی‌تأثیر است.

مطالعات اندکی در زمینه اثر لوزیندول بر یادگیری و حافظه صورت پذیرفته است. برای مثال Argyriou و همکارانش نشان دادند که لوزیندول می‌تواند اثر تسهیل کننده ملاتونین بر حافظه کوتاه مدت را بلوکه کند (۴۴). Han و همکارانش نیز نشان داده‌اند که تجویز درون صفاقی ۰/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن لوزیندول با اثر معکوس کنندگی ملاتونین بر ترجیح مکان شرطی در موش‌های معتاد به مورفین جلوگیری می‌کند (۴۵). این در حالی است که نتایج یک مطالعه دیگر نشان می‌دهد که تجویز درون صفاقی ۳۰ تا ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن لوزیندول می‌تواند اضطراب موش‌های صحرائی را کاهش دهد (۴۶). اگرچه برخی مطالعات مثل مطالعه Song و همکاران تجویز ۰/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن لوزیندول به صورت صفاقی را در معکوس کردن اعمال ملاتونین مؤثر دانسته‌اند (۴۷)، در مطالعه ما، لوزیندول بر عملکرد یادگیرانه و تثبیت حافظه موش‌های تیمار شده با روشنائی مؤثر واقع نشد و تنها تثبیت حافظه در موش‌های گروه کنترل را مختل کرد. اینکه علت دقیق این مشاهدات در زمینه عملکرد لوزیندول در این مطالعه چیست، نیازمند تحقیقات گسترده‌تری است که توسط مجریان طرح حاضر در دست اقدام است.

Archive of SID

www.SID.ir

نتیجه‌گیری

با جمع‌بندی مطالب حاضر می‌توان نتیجه‌گیری کرد که تغییر در تجربه حس بینایی به صورت افزایش ساعات دریافت نور از محیط در دوره بحران تکامل مغز، در روند یادگیری موش‌های صحرایی در ماز آبی موریس ایجاد اختلال می‌کند، اما، در روند بازخوانی اطلاعات و حافظه فضایی تأثیری ندارد. به علاوه ملاتونین باعث ایجاد اختلال در یادگیری فضائی موش‌های صحرائی شده و بر روند تثبیت حافظه آنها در ماز آبی موریس بی‌تأثیر است. لوزیندول نیز نمی‌تواند با عملکرد ملاتونین در موش‌های تیمار شده با تاریکی مخالفت کرده و تنها باعث ایجاد اختلال در تثبیت حافظه فضائی موش‌های گروه کنترل می‌گردد.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان به خاطر تأمین هزینه انجام این طرح تحقیقاتی و از خانم‌ها ریحانه اسلامیان و مریم غلامی و نیز جناب آقای مرتضی ضیائی به خاطر کمک‌های ایشان در انجام پروژه، کمال تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

References

1. Hensch TK. Critical period plasticity in local cortical circuits. Nat Rev Neurosci 2005; 6: 877-888.
2. Hensch TK, Critical period mechanisms in developing visual cortex. Curr Topics Develop Biol 2005; 69: 215.
3. Morishita H, Hensch TK. Critical period revisited: impact on vision. Current Opinion in Neurobiology 2008; 18: 101-107.
4. Yang C B, Kiser PJ, Zheng YT, Varoqueaux F, and Mower GD. Bidirectional regulation of Munc13-3 protein expression by age and dark rearing during the critical period in mouse visual cortex. Neuroscience 2007; 150: 603-608.
5. Crews F, He J and Hodge C. Adolescent cortical development: A critical period of vulnerability for addiction. Pharmacol Biochem Behav 2007; 86: 189-199.
6. Hooks BM, Chen C. Critical periods in the visual system: changing views for a model of experience-dependent plasticity. Neuron 2007; 56: 312-326.
7. Fathollahi Y, Salami M. The role of N-methyl-aspartate receptors in synaptic plasticity of rat visual cortex in vitro: effect of sensory experience. Neurosci Lett 2001; 306: 149-152.
8. Salami M, Fathollahi Y, Semnanian S and Atapour N. Differential effect of dark rearing on long-term potentiation induced by layer IV and white matter stimulation in rat visual cortex. Neurosci Res 2000; 38: 349-356.
9. Yukie M. Connections between the medial temporal cortex and the CAI subfield of the hippocampal formation in the Japanese monkey (Macaca fuscata). J Comp Neurol 2000; 423: 282-298.
10. Lavenex P, Amaral DG. Hippocampal-neocortical interaction: a hierarchy of associativity. Hippocampus 2000; 10: 420-430.
11. Paul CM, Magda G and Abel S. Spatial memory: theoretical basis and comparative review on experimental methods in rodents. Behav Brain Res 2009; 203: 151-164.
12. O'Keefe J, Dostrovsky J. The hippocampus as a spatial map. Preliminary evidence from unit activity in the freely-moving rat. Brain Res 1971; 34: 171-175.
13. Waters N S, Klintsova AY and Foster TC. Insensitivity of the hippocampus to environmental stimulation during postnatal development. J Neurosci 1997; 17: 7967-7973.
14. Dhanushkodi A, Shetty AK. Is exposure to enriched environment beneficial for functional post-lesional recovery in temporal lobe epilepsy? Neurosci Biobehav Rev 2008; 32: 657-674.
15. Mora F, Segovia G and del Arco A. Aging, plasticity and environmental enrichment: structural changes and neurotransmitter dynamics in several areas of the brain. Brain Res Rev 2007; 55: 78-88.

Archive of SID
www.SID.ir

16. Vanecek J. Cellular mechanisms of melatonin action. Physiol Rev 1998; 78: 687-721.
17. Gerstner JR, Lyons LC, Wright KP, Loh DH, Rawashdeh O, Eckel-Mahan KL and et al. Cycling behavior and memory formation. J Neurosci 2009; 29: 12824-12830.
18. Reiter RJ, Tan DX, Qi W, Manchester LC, Karbownik M and Calvo JR. Pharmacology and physiology of melatonin in the reduction of oxidative stress in vivo. Biol Signals Recept 2000; 9: 160-171.
19. Dubocovich ML. Melatonin receptors: Role on sleep and circadian rhythm regulation. Sleep Med 2007; 8: 34-42.
20. Musshoff U, Riewenherm D, Berger E, Fauteck JD and Speckmann EJ. Melatonin receptors in rat hippocampus: molecular and functional investigations. Hippocampus 2002; 12: 165-173.
21. Savaskan E, Ayoub MA, Ravid R, Angeloni D, Fraschini F, Meier F and et al. Reduced hippocampal MT2 melatonin receptor expression in Alzheimer's disease. J Pineal Res 2005; 38: 10-16.
22. Stewart LS, Leung LS. Hippocampal melatonin receptors modulate seizure threshold. Epilepsia 2005; 46: 473-480.
23. Huang LT, Tiao MM, Tain YL, Chen CC and Hsieh CS. Melatonin ameliorates bile duct ligation-induced systemic oxidative stress and spatial memory deficits in developing rats. Pediatr Res 2009; 65: 176-180.
24. Ozdemir D, Tugyan K, Uysal N, Sonmez U, Sonmez A, Acikgoz O, and et al. Protective effect of melatonin against head trauma-induced hippocampal damage and spatial memory deficits in immature rats. Neurosci Lett 2005; 385: 234-239.
25. Rogers NL, Kennaway DJ and Dawson D. Neurobehavioural performance effects of daytime melatonin and temazepam administration. J Sleep Res 2003; 12: 207-212.
26. Soto-Moyano R, Burgos H, Flores F, Valladares L, Sierralta W, Fernandez V and et al. Melatonin administration impairs visuo-spatial performance and inhibits neocortical Long-term potentiation in rats. Pharmacol Biochem Behav 2006; 85: 408-414.
27. Uysal N, Ozdemir D, Dayi A, Yalaz G, Baltaci AK and Bediz CS. Effects of maternal deprivation on melatonin production and cognition in adolescent male and female rats. Neuro Endocrinol Lett 2005; 26: 555-560.
28. Sharma M, Briyal S and Gupta YK. Effect of alpha lipoic acid, melatonin and trans resveratrol on intracerebroventricular streptozotocin induced spatial memory deficit in rats. Indian J Physiol Pharmacol 2005; 49: 395-402.
29. Gonenc S, Uysal N, Acikgoz O, Kayatekin BM, Sonmez A, Kiray M, and et al. Effects of melatonin on oxidative stress and spatial memory impairment induced by acute ethanol treatment in rats. Physiol Res 2005; 54: 341-348.
30. Dubocovich ML, Luzindole N. A novel melatonin receptor antagonist. J Pharmacol Exp Ther 1988; 246: 902-910.
31. Wang LM, Suthana NA, Chaudhury D, Weaver DR and Colwell CS. Melatonin inhibits hippocampal long-term potentiation. Eur J Neurosci 2005; 22: 2231-2237.
32. Yang L, Pan Z, Zhou L, Lin S and Wu K. Continuously changed genes during postnatal periods in rat visual cortex. Neurosci Lett 2009; 462: 162-165.
33. Feng Y, Zhang LX and Chao DM. Role of melatonin in spatial learning and memory in rats and its mechanism. Sheng Li Xue Bao 2002; 54: 65-70.
34. Tang F, Nag S, Shiu SYW and Pang SF. The effects of melatonin and Ginkgo biloba extract on memory loss and choline acetyltransferase activities in the brain of rats infused intracerebroventricularly with [beta]-amyloid 1-40. Life Sci 2002; 71: 2625-2631.
35. Kohr G, NMDA. Receptor function: subunit composition versus spatial distribution. Cell Tissue Research 2006; 326: 439-446.
36. Nakazawa K, McHugh TJ, Wilson MA and Tonegawa S. NMDA receptors, place cells and hippocampal spatial memory. Nat Rev Neurosci 2004; 5: 361-372.
37. Kopp C, Longardo F and Luthi L. Experience-dependent changes in NMDA receptor composition at mature central synapses. Neuropharmacology 2007; 53: 1-9.

Archive of SID
www.SID.ir

38. Lebel D, Sidhu N, Barkai E and Quinlan EM. Learning in the absence of experience-dependent regulation of NMDAR composition. Learn Mem 2006; 13: 566-570.
39. Frick KM, Fernandez SM. Enrichment enhances spatial memory and increases synaptophysin levels in aged female mice. Neurobiol Aging 2003; 24: 615-626.
40. Loukavenko EA, Ottley MC, Moran JP, Wolff M and Dalrymple-Alford JC. Towards therapy to relieve memory impairment after anterior thalamic lesions: improved spatial working memory after immediate and delayed postoperative enrichment. Eur J Neurosci 2007; 26: 3267-3276.
41. Workman JL, Bowers SL and Nelson RJ. Enrichment and photoperiod interact to affect spatial learning and hippocampal dendritic morphology in white-footed mice (Peromyscus leucopus). Eur J Neurosci 2009; 29: 161-170.
42. Wan Q, Man HY, Liu F, Braunton J, Niznik HB, Pang SF, and et al. Differential modulation of GABAA receptor function by Mel1a and Mel1b receptors. Nat Neurosci 1999; 2: 401-403.
43. Podda MV, Deriu F, Giaconi E, Milia M and Tolu E. Melatonin inhibits rat medial vestibular nucleus neuron activity in vitro. Neurosci Lett 2003; 341: 209-212.
44. Argyriou A, Prast H and Philippu A. Melatonin facilitates short-term memory. Eur J Pharmacol 1998; 349: 159-162.
45. Han J, Xu Y, Yu CX, Shen J and Wei YM. Melatonin reverses the expression of morphine-induced conditioned place preference through its receptors within central nervous system in mice. Eur J Pharmacol 2008; 594: 125-131.
46. Nava F, Carta G. Melatonin reduces anxiety induced by lipopolysaccharide in the rat. Neurosci Lett 2001; 307: 57-60.
47. Song GH, Gwee KA, Moochhala SM and Ho KY. Melatonin attenuates stress-induced defecation: lesson from a rat model of stress-induced gut dysfunction. Neurogastroenterol Motil 2005; 17: 744-750.

Archive of SID

www.SID.ir