Downloaded from zjrms.ir at 16:43 +0430 on Sunday May 19th 2019

اثر ملاتونین و لوزیندول بر یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرایی تیمار شده با تاریکی

محمود سلامی،[1] غلامعلی حمیدی،[2] سید علیرضا طلائی‌زواره[3]

۱. دانشیار فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کاشان
۲. استادیار فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کاشان
۳. مربی فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی کاشان

تاریخ دریافت مقاله: ۸۹/۲/۱۵
تاریخ پذیرش مقاله: ۸۹/۳/۲۵

چکیده

زمینه و هدف: طی دوره بحرانی رشد، تکامل وابسته به تجربه حسی تاثیر عمیقی بر شکل‌گیری و عملکرد صحیح سیستم عصبی پستانداران می‌گذارد. هدف از انجام این مطالعه بررسی آثار متقابل ملاتونین، آنتاگونیست آن، لوزیندول و تیمار تاریکی بر فرآیندهای یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرایی با استفاده از ماز آبی موریس(Morris Water Maze) است.

مواد و روش‌کار: این مطالعه تجربی روی ۶۰ سر موش صحرائی نر ۴۵ روزه نژاد ویستارکه به‌طور تصادفی در دو گروه توزیع شده بودند، انجام شد. حیوانات گروه شاهد دوره‌های ۱۲ ساعته تاریکی و روشنایی را تجربه کردند وگروه آزمون در تاریکی کامل رشد یافتند. هر گروه به سه زیر گروه کنترل، دریافت کننده ملاتونین و دریافت کننده لوزیندول تقسیم شد. با استفاده از ماز آبی روند یادگیری و تثبیت حافظه حیوانات به مدت ۵ شب و هر شب ۴ جلسه بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج این مطالعه نشان می‌دهند که در مرحله یادگیری حیوانات محروم از روشنایی نسبت به گروه شاهد زمان بیشتری را برای یافتن سکو سپری کرده‌اند (p=۰/۰۱۱). هم‌چنین ملاتونین باعث افزایش این زمان در موش‌های شاهد می‌گردد (p=۰/۰۱۲). تیمار تاریکی و ملاتونین بر تثبیت حافظه این حیوانات بی‌تاثیر است و لوزیندول باعث می‌شود موش‌های شاهد زمان کمتری را در ربع هدف بگذرانند (p=۰/۰۰۹).

نتیجه‌گیری: تیمار تاریکی باعث ایجاد اختلال در روند یادگیری فضایی موش‌های صحرائی می‌شود و نیز ملاتونین یادگیری فضایی حیوانات کنترل را با مشکل مواجه می‌کند. هیچ‌کدام از دو مداخله فوق بر روند تثبیت حافظه موثر نیستند.[م ت ع پ ز ، ۱۳(۱): ۱۶-۱۰]

کلیدواژه‌ها: تاریکی، تحریک نورانی، یادگیری ماز، ملاتونین، لوزیندول، موش صحرایی

مقدمه

نحوه شکل‌گیری ارتباطات سیناپسی سیستم عصبی مرکزی در اوایل زندگی، بر بسیاری از رفتارهای پستانداران در دوران بلوغ تاثیرگذار است.[1] در این دوران، علاوه بر ژنتیک، تجربیات حاصل از برخورد با محیط نیز نقش مهمی در شکل‌گیری ارتباطات سیناپسی دارند.[2] امروزه ثابت شده است که تغییر در نحوه تعامل یک پستاندار با محیط اطراف، اعم از محروم ساختن وی از برخی پیام‌های محیطی و یا تقویت سیگنال‌های رسیده از محیط به پستاندار در اوایل دوره نوزادی (دوره بحرانی تکامل مغز) آثار بسیار وسیعی بر شکل‌گیری ارتباطات سیناپسی دارد.[3] در این بین، آثار محرومیت از بینایی در دوره بحرانی تکامل مغز، بر ساختار و عملکرد قشر بینایی در مطالعات گسترده‌ای بررسی شده است.[4] هم‌چنین ثابت شده است که بخشی از پیام‌های بینایی پس از پردازش در قشر اولیه بینایی به طور مستقیم یا غیرمستقیم از طریق قشر انتورینال، به تشکیلات هیپوکامپ می‌رسند.[5,6]

تشکیلات هیپوکامپ در فرآیندهای یادگیری و تثبیت حافظه، بالاخص حافظه فضایی نقش اصلی را بازی می‌کند.[7] پستانداران با استفاده از سیگنال‌های رسیده از محیط و به‌ویژه سیگنال‌های بینایی، سعی در یادگیری و به خاطر سپردن یک موقعیت در فضا، یا موقعیت بدن خود در فضای اطراف می‌نمایند.[8] همانند قشرهای حسی، برای هیپوکامپ نیز یک دوره بحرانی تکامل در نظر گرفته شده است.[9] نتایج برخی مطالعات حاکی از این است که تغییر در تجربه حسی در این دوران بر ساختار و عملکرد آن در دوران بلوغ تاثیر به‌سزایی دارد.[10] طلائی و همکاران نیز در یک مطالعه نشان دادندکه تغییر در تجربه حس بینایی باعث ایجاد تغییر در پتانسیل‌های پس سیناپسی میدانی ناحیه CA1 هیپوکامپ موش صحرایی می‌شود.[11]

ملاتونین به صورت سیرکادین از غده پینه‌آل ترشح می‌شود. بیشترین مقدار ترشح آن در ساعات تاریکی است و ایمپالس‌های نور به سرعت ترشح آن را بلوک می‌کنند.[12] اعمال ملاتونین از طریق دو گیرنده وابسته به خانواده گیرنده‌های متصل‌شونده به پروتئین‌های G به نام MT1 و MT2 انجام می‌گیرد.[13] حضور این دو گیرنده در نواحی مربوط به یادگیری و حافظه، به‌ویژه هیپوکامپ پستانداران نشان داده شده‌است.[14] نتایج برخی مطالعات حاکی از این است که ملاتونین و آگونیست‌های آن می‌توانند از ایجاد اختلال در فرآیندهای یادگیری و حافظه فضایی جلوگیری کنند،[15,16] در حالی‌که برخی دیگر اثرات تقویت‌کننده آن را مشاهده کرده‌اند.[17] این درحالی است که‌آثار مخرب ملاتونین بر یادگیری و حافظه فضایی نیز نشان داده شده است.[18] لوزیندول (Luzindole) (۲-بنزیل-N-استیل تریپتامین) یک آنتاگونیست غیرانتخابی برای هر دو گیرنده ملاتونین است و تمایل آن برای بلوک کردن MT2 اندکی بیشتر است[19] و پیشنهاد شده است که می‌تواند با ایجاد برخی از آثار ملاتونین روی فرآیندهای یادگیری و تثبیت حافظه مخالفت کند.[20] باتوجه به مطالب ذکر شده، هدف از انجام این مطالعه بررسی

۱۰ آدرس نویسنده مسئول: کاشان، مرکز تحقیقات فیزیولوژی
email: talaei@kaums.ac.ir

Downloaded from zjrms.ir at 16:43 +0430 on Sunday May 19th 2019

تقابل اثر محرومیت از بینایی، ملاتونین و لوزیندول بر فرآیندهای یادگیری و تثبیت حافظه فضایی موش‌های صحرایی در ماز آبی موریس است.

روش‌کار

در این مطالعه تجربی از ۶۰ سر موش صحرایی ۴۵ روزه نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۱۶۰ تا ۱۸۰ گرم استفاده گردید. حیوانات به‌طور تصادفی به دو گروه آزمایشی تقسیم شدند: گروه شاهد (CO): موش‌هایی که از بدو تولد تا زمان آزمایش در شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی پرورش یافتند. گروه محروم از تاریکی (DR)؛ موش‌هایی که از بدو تولد تا پایان دوره آزمایش در طول شبانه‌روز در تاریکی کامل پرورش یافتند و حیوانات هر گروه به نوبه خود در سه زیر گروه ۱۰ سری وارد شدند: حیواناتی که هیچ‌گونه دارویی دریافت نمی‌کردند (CO, DR)، حیواناتی که ملاتونین دریافت کرده (COM, DRM) و حیواناتی که لوزیندول دریافت می‌کردند (COL, DRL).

شایان ذکر است که حداکثر ۲ فرزند نر حاصل از یک حاملگی انتخاب شده و وارد گروه‌ها می‌شدند. آب و غذای استاندارد به‌طور آزاد و به مقدار کافی در اختیار حیوانات قرار داشت. دمای محل نگهداری حیوانات ۲۲±۲°C و رطوبت هوا ۵۵±۵ درصد بود. کلیه اصول اخلاقی در رابطه با انجام تحقیقات روی حیوانات آزمایشگاهی مطابق با دستور العمل‌های کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کاشان و معاهده هلسینکی رعایت شدند.

ملاتونین و لوزیندول از شرکت Sigma-Aldrich کشور آمریکا خریداری گردیدند. برای آماده‌سازی محلول ملاتونین ابتدا ۵۰۰ میلی‌گرم پودر ملاتونین در ۲ میلی‌لیتر 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 نهایی محلول به‌گونه‌ای تنظیم شد که هر میلی‌لیتر آن حاوی ۰/۵ میلی‌گرم لوزیندول باشد. ماز آبی موریس که امروزه به‌طور گسترده در تحقیقات مربوط به یادگیری و تثبیت حافظه فضایی مورد استفاده قرار می‌گیرد، یک تانک آب با قطر ۱۶۰ و عمق ۷۰ سانتی‌متر است که تا ارتفاع ۵۰ سانتی متری 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 طوری‌که حدود ۱/۵ سانتی‌متر زیر سطح آب واقع می‌شود و از بیرون قابل دیدن نیست. حرارت آب در حدود ۲۲°C-۲۰ تنظیم می‌شود. ماز در اتاقی قرار می‌گیرد که در آن علایم 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، پایش 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 نرم‌افزار اختصاصی "ردیاب ۱، ویرایش ۷" که توانایی پذیرش تنظیمات مختلف برای آزمایشات مختلف در ماز آبی را دارد، استفاده شد.

مراحل انجام آزمایش شامل:

الف- مرحله یادگیری یا آموزش: در این مرحله حیوانات، هرشب، ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش‌ها به اتاق محل استقرار ماز منتقل می‌شدند. طی مرحله یادگیری، حیوان از یکی از سمت‌های چهارگانه ماز درحالی‌که 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 به‌وسیله برنامه نرم افزاری پیشنهاد می‌گردید. با توجه به اندازه ماز و نوع حیوان (موش صحرایی) حداکثر زمان آزمایش ۹۰ 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 میانی‌تر نیز وارد می‌شود. به هر حال اگر حیوان به‌طور اتفاقی سکوی پنهان مخفی در زیر آب را پیدا می‌کرد روی آن قرار می‌گرفت و 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 در اتاق محل آزمایش، جایگاه سکو را پیدا نماید. علائم فضایی موجود در محل آزمایش و موقعیت سکو در یکی از چهار قسمت ماز در طول آزمایشات ثابت بود. اگر در مدت ۹۰ ثانیه موش نمی‌توانست سکو را پیدا کند، آزمایش‌کننده 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 مجددا تکرار می‌گردید؛ با این تفاوت که محل رها شدن موش در ماز نسبت به مرحله قبل متفاوت بود. هر موش ۴ 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 mg/kg ملاتونین یا ۰/۵mg/kg لوزیندول به‌صورت 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 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؛ به‌عنوان مثال اگر بیشترین زمان مربوط به قسمتی بود که قبلاً سکو در آن بوده است، روشن

Downloaded from zjrms.ir at 16:43 +0430 on Sunday May 19th 2019

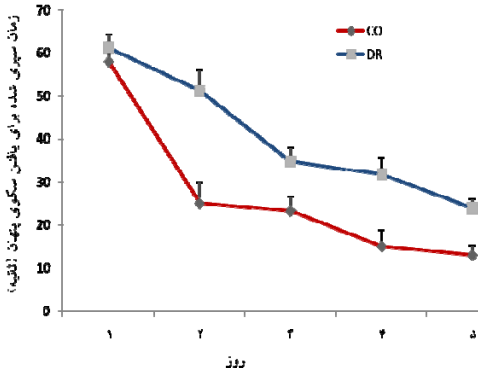
می‌شد که حیوان بر اساس علائم بینایی- فضایی خارج از ماز سکو را پیدا می‌کرده است و نه به‌طور اتفاقی و یا به‌دلیل دیدن سکو در زیر آب. در این مرحله از آزمایش، هر جلسه الزاما ۹۰ ثانیه طول کشید و به‌دلیل عدم وجود سکو پس از پایان مدت، موش از ماز برداشته می‌شد. این مرحله از آزمایش برای هر موش یک‌بار انجام گردید و مدت زمان سپری شده در ربع صحیح ماز (که در مرحله قبل واجد سکو بود) معیار میزان یادگیری و یادآوری قرار گرفت.

نتایج به‌دست آمده از آزمایشات مرحله یادگیری با استفاده از نرم افزار SPSS-17 و با روش آماری ANOVA مقایسه گردیدند. برای نشان دادن ساده‌تر و درک بهتر رفتار حیوانات در دو گروه مورد آزمایش، میانگین رفتار حیوانات طی ۴ جلسه روزانه در شکل‌ها به صورت یک نقطه نمایش داده شده است. هم‌چنین، داده‌های مربوط به مرحله پروب با استفاده از آمار ANOVA و پس آزمون Bonferroni مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقدار p کوچکتر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها

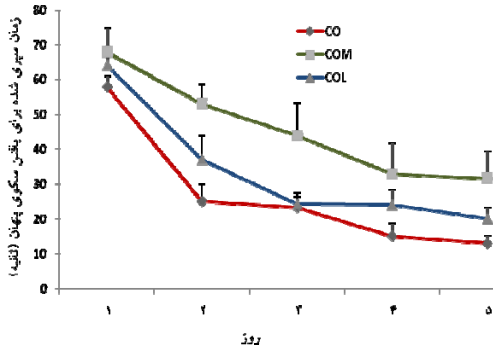
۱- مرحله یادگیری:

الف- تاثیر تیمار تاریکی بر یادگیری: پس از بررسی داده‌های جمع‌آوری شده از مجموع ۲۰ جلسه آموزش حیوانات در ماز آبی موریس و با توجه به معنی‌دار بودن آزمون کرویت موخلی (Mauchly's test of sphericity) ($p<۰/۰۰۰۱$)، نتایج آزمون Greenhouse-Geisser نشان داد که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین همه گروه‌ها در مورد زمان سپری شده برای یافتن سکو در ماز وجود دارد ($p<۰/۰۰۰۱$). همان گونه 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. با این حال موش‌های گروه کنترل یادگیری به مراتب بهتری را نسبت به موش‌های تیمار شده با تاریکی از خود نشان دادند. نتایج آزمون تعقیبی Bonferroni بیان‌گر آن است که اختلاف بین دو گروه معنی‌داراست ($p=۰/۰۱۱$).



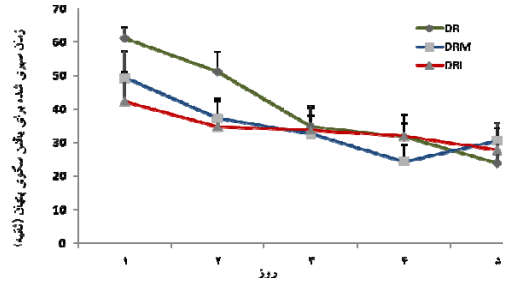
نمودار ۱: مدت زمان لازم جهت یافتن سکوی پنهان توسط حیوانات هر دو گروه مورد مطالعه در روزهای مختلف آزمایش

ب- تاثیر ملاتونین و لوزیندول بر یادگیری موش‌های 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 ($p=۰/۰۱۲$). هم‌چنین، با توجه به نمودار می‌توان دریافت که تجویز لوزیندول بر روند یادگیری حیوانات بی تاثیر است ($p>۰/۰۵$).



نمودار ۲: تاثیر ملاتونین و لوزیندول بر روند یادگیری موش‌های گروه کنترل در روزهای مختلف آزمایش

ج- تاثیر ملاتونین و لوزیندول بر یادگیری موش‌های تیمار شده با تاریکی: نتایج آماره ANOVA حاکی از این است که تجویز ملاتونین و لوزیندول ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایشات روزانه بر روند یادگیری موش‌های تیمار شده با تاریکی بی‌تاثیر است (نمودار ۳).



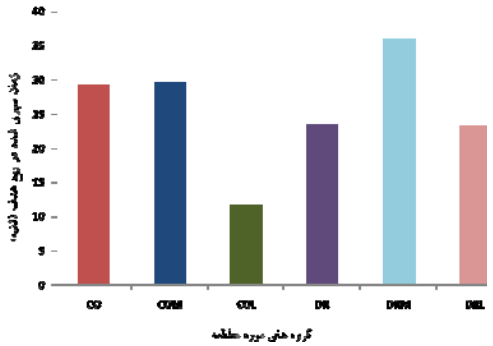
نمودار ۳: تاثیر ملاتونین و لوزیندول بر روند یادگیری موش های گروه تیمار شده با تاریکی در روزهای مختلف آزمایش

۲- مرحله بازخوانی (پروب):

نتایج حاصل از مقایسه بین گروه‌ها با آزمون آنالیز واریانس از نظر زمان صرف شده جهت یافتن سکو بیان‌گر این مطلب است که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های آزمایش شده وجود دارد ($p<۰/۰۰۰۱$). نتایج آزمون تعقیبی Bonferroni بیان می‌دارند که تفاوت بین دو گروه CO و DR از نظر مدت زمان یافتن محل سکوی پنهان معنی‌دار نیست. تجویز لوزیندول باعث ایجاد اختلال در روند تثبیت حافظه فضایی موش‌های گروه کنترل می‌گردد؛ به نحوی که این موش‌ها مدت زمان کمتری را در ربع هدف می‌گذرانند ($p=۰/۰۰۹$) و این در حالی است که تجویز ملاتونین بر این روند بی‌تاثیر است

Downloaded from zjrms.ir at 16:43 +0430 on Sunday May 19th 2019

($p>۰/۰۵$). هم‌چنین، با توجه به نمودار ۴ می‌توان دریافت که تزریق داخل صفاقی ملاتونین و لوزیندول بر ورند تثبیت حافظه فضایی موش‌های تیمار شده با تاریکی بی‌تاثیر است.



نمودار ۴: مدت زمانی که موش‌های گروه‌های آزمایش در مرحله بازخوانی اطلاعات آموخته شده برای یافتن سکوی پنهان صرف کردند

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که تغییر در تجربه حس بینایی به صورت کاهش ساعات دریافت نور از محیط در طول شبانه روز، منجر به ایجاد اختلال در روند یادگیری فضایی موش‌های صحرایی می‌شود. این اختلال به صورت افزایش زمان سپری شده جهت یافتن سکوی پنهان در ماز آبی، در دو گروه مذکور مشاهده شد. تجویز ملاتونین و لوزیندول بر عملکرد یادگیرانه موش‌های صحرایی تیمار شده با تاریکی بی‌تاثیر است و هم‌چنین ملاتونین باعث کند شدن روند یادگیری موش‌های گروه کنترل می‌شود. به علاوه، تیمار تاریکی در روند تثبیت حافظه موش‌های صحرایی تاثیری ندارد و لوزیندول باعث ایجاد اختلال در تشکیل حافظه موش‌های گروه کنترل می‌شود. شواهد متعددی مبنی بر اثر محرومیت از نور بر دو مکانیسم پیشنهادی حافظه و یادگیری یعنی LTD و LTP وجود دارد.[۲۱،۲۲] با این حال مطالعات اندکی اثرات محرومیت از نور بر رفتار حیوانات آزمایشگاهی را مورد بررسی قرار داده‌اند و در این زمینه اطلاعات کمی در دست است.[۲۳،۲۴] بررسی ها نشان می‌دهند که برخی اعمال وابسته به هیپوکامپ تقریباً سه هفته پس از تولد موش صحرایی پدیدار می‌شوند [۲۵] و محرومیت حسی، همانند تکامل قشری می‌تواند تکامل هیپوکامپ را نیز تحت تاثیر قرار دهد. بنابراین، می‌توان گفت که یکی از دلایل ضعف عملکرد گروه DR در مرحله یادگیری در ماز آبی می‌تواند ناشی از ضعف تکامل در سیستم عصبی حیوانات به دلیل محرومیت از نور باشد که منجر به ایجاد مشکل در سیستم بینایی- فضایی می‌شود. نتایج بررسی‌هایی که توسط Tees و همکاران در مورد توانایی موش‌های صحرایی هنگام جستجو در ماز آبی [۲۴] انجام شده، نشان می‌دهد که موش‌های پرورش یافته در شرایط استاندارد (روشنایی-تاریکی) در زمان کمتری سکوی ماز آبی را پیدا می‌کنند. تغییر در سیکل‌های شبانه روزی می‌تواند باعث ایجاد اختلال در ریتم ترشح هورمون‌های سیرکادین مثل ملاتونین شود.[۱۲] گزارش شده است که طولانی‌تر شدن دوره‌های روشنایی در طول شبانه روز منجر به کاهش ترشح ملاتونین شده و از طرف دیگر رسیدن پالس‌های نورانی به سیستم بینایی پستانداران در شب هنگام (موقعی که ترشح ملاتونین در پیک است) منجر به افت سریع غلظت پلاسمایی آن می‌شود.[۱۸] نتایج حاصل از مطالعه ما حاکی از این بود که تیمار کردن حیوانات با تاریکی کامل از بدو تولد تا ۴۵ روزه‌گی؛ یعنی زمانی که سیستم عصبی موش‌های صحرایی به بلوغ کامل می‌رسد [۲۶] و نیز تجویز ملاتونین برای حیوانات گروه کنترل باعث ایجاد اختلال در روند یادگیری فضایی این حیوانات می‌شود. اگرچه نتایج برخی از تحقیقات نشان می‌دهند که هورمون ملاتونین باعث بهبود عملکرد فضایی می‌گردد[۱۵،۲۷] اما Soto-Moyano و همکارانش بیان می‌دارند که تجویز درون صفاقی ملاتونین با دوزهای ۰/۱mg/kg تا ۱۰mg/kg به‌صورت روزانه باعث ایجاد اختلال در یادگیری بینایی- فضایی موش‌های صحرایی در ماز آبی موریس می‌شود.[۱۸] نتایج یک مطالعه دیگر حاکی از این است که تجویز ملاتونین باعث ایجاد اختلال در یادگیری موش‌های صحرایی در ماز آبی موریس می‌شود. به‌علاوه این دانشمندان نشان داده‌اند که ملاتونین می‌تواند مانع از القای LTP در ناحیه CA1 هیپوکامپ شود.[۲۸] اما پاسخ این سوال که چرا ملاتونین نتوانست بر عملکرد یادگیرانه موش‌های تیمار شده با تاریکی تاثیرگذار باشد را باید در این مطلب جستجو کرد که تیمار تاریکی باعث در پیک ماندن غلظت ملاتونین سرم به‌طور دائم می‌شود[۱۲] و این غلظت بالای ملاتونین در سرم طی چند روز می‌تواند باعث تنظیم کاهشی گیرنده‌های ملاتونین در سرتاسر بدن گردد[۲۹] و لذا نمی‌توان آثار ملاتونین برون‌زاد را مشاهده نمود. در مورد عملکرد ملاتونین در حافظه و القای آن گزارشات ضد و نقیضی موجود است. اگرچه برخی مطالعات از اثر تسهیل کننده ملاتونین بر القای حافظه در مغز سخن گفته‌اند[۳۰] اما برخی دیگر نشان می‌دهند که ملاتونین مانع از القای LTP در برش‌های تهیه شده از مغز می‌شود.[۱۸،۲۰،۳۱] نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد که ملاتونین بر روند تثبیت حافظه هر دو گروه بی‌تاثیر 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.[۳۲] Han و همکارانش نیز نشان داده‌اند که تجویز درون صفاقی ۰/۵mg/kg لوزیندول با اثر معکوس‌کنندگی ملاتونین از ترجیح مکان شرطی در موش‌های معتاد به مورفین جلوگیری می‌کند.[۳۳] این در حالی است که نتایج یک مطالعه دیگر نشان می‌دهد که تجویز درون صفاقی ۳۰mg/kg تا ۶۰mg/kg لوزیندول می‌تواند اضطراب موش‌های صحرایی را کاهش دهد.[۳۴] اگرچه برخی مطالعات تجویز ۰/۲۵ mg/kg لوزیندول به‌صورت صفاقی را در معکوس کردن اعمال ملاتونین موثر دانسته‌اند،[۳۵] در مطالعه ما، لوزیندول بر عملکرد یادگیرانه و تثبیت حافظه موش‌های تیمار شده با تاریکی موثر واقع نشد و تنها تثبیت حافظه در موش‌های گروه کنترل را

Downloaded from zjrms.ir at 16:43 +0430 on Sunday May 19th 2019

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. در مجموع می‌توان گفت تغییر در تجربه حس بینایی به صورت کاهش 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 تاثیری ندارد. به علاوه ملاتونین باعث ایجاد اختلال در یادگیری فضایی موش‌های صحرایی شده و بر روند تثبیت حافظه آن‌ها در ماز آبی موریس بی‌تاثیر است. لوزیندول نیز نمی‌تواند با عملکرد ملاتونین در موش‌های تیمار شده با تاریکی مخالفت کرده و تنها باعث ایجاد اختلال در تثبیت حافظه فضایی موش‌های گروه کنترل می‌گردد.

سپاسگزاری

هزینه انجام مقاله ارایه شده از طریق طرح تحقیقاتی شماره ۸۵۲۵ مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان تامین گردیده است.

References

1. Morishita H, Hensch TK. Critical period revisited: impact on vision. Curr Opin Neurobiol 2008; 18(1): 101-7.
2. McCoy PA, Huang HS, Philpot BD. Advances in understanding visual cortex plasticity. Curr Opin Neurobiol 2009; 19(3): 298-304.
3. Crews F, He J, Hodge C. Adolescent cortical development: A critical period of vulnerability for addiction. Pharmacol Biochem Behav 2007; 86(2): 189-99.
4. Hooks BM, Chen C. Critical periods in the visual system: changing views for a model of experience-dependent plasticity. Neuron 2007; 56(2): 312-26.
5. 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(2): 282-98.
6. Lavenex P, Amaral DG. Hippocampal-neocortical interaction: a hierarchy of associativity. Hippocampus 2000; 10(4): 420-30.
7. 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(1): 171-5.
8. Paul CM, Magda G, Abel S. Spatial memory: Theoretical basis and comparative review on experimental methods in rodents. Behav Brain Res 2009; 203(2): 151-64.
9. Waters NS, Klintsova AY, Foster TC. Insensitivity of the hippocampus to environmental stimulation during postnatal development. J Neurosci 1997; 17(20): 7967-73.
10. Dhanushkodi A, Shetty AK. Is exposure to enriched environment beneficial for functional post-lesional recovery in temporal lobe epilepsy? Neurosci Biobehav Rev 2008; 32(4): 657-74.
11. Talaei SA, Sheibani V, Salami M. Light deprivation improves melatonin related suppression of hippocampal plasticity. Hippocampus 2010; 20(3): 447-55.
12. Vanecek J. Cellular mechanisms of melatonin action. Physiol Rev 1998; 78(3): 687-721.
13. Dubocovich ML. Melatonin receptors: Role on sleep and circadian rhythm regulation. Sleep Med 2007; 8 (Suppl 3): 34-42.
14. Musshoff U, Riewenherm D, Berger E, et al. Melatonin receptors in rat hippocampus: molecular and functional investigations. Hippocampus 2002; 12(2): 165-73.
15. Conboy L, Tanrikut C, Zoladz PR, et al. The antidepressant agomelatine blocks the adverse effects of stress on memory and enables spatial learning to rapidly increase neural cell adhesion molecule (NCAM) expression in the hippocampus of rats. Int J Neuropsychopharmacol 2008: 1-13.
16. Huang LT, Tiao MM, Tain YL, et al. Melatonin ameliorates bile duct ligation induced systemic oxidative stress and spatial memory deficits in developing rats. Pediatr Res 2009; 65(2): 167-80.
17. Feng Z, Cheng Y, Zhang JT. Long-term effects of melatonin or 17 beta-estradiol on improving spatial memory performance in cognitively impaired, ovariectomized adult rats. J Pineal Res 2004; 37(3): 198-206.
18. Soto-Moyano R, Burgos H, Flores F, et al. Melatonin administration impairs visuo-spatial performance and inhibits neocortical long-term potentiation in rats. Pharmacol Biochem Behav 2006; 85(2): 408-14.
19. Dubocovich ML. Luzindole (N-0774): A novel melatonin receptor antagonist. J Pharmacol Exp Ther 1988; 246(3): 902-10.
20. Wang LM, Suthana NA, Chaudhury D, et al. Melatonin inhibits hippocampal long-term potentiation. Eur J Neurosci 2005; 22(9): 2231-7.
21. Berry RL, Perkins AT, Teyler TJ. Visual deprivation decreases long-term potentiation in rat visual cortical slices. Brain Res 1993; 628(1-2): 99-104.
22. Kirkwood A, Rioult MG, Bear MF. Experience dependent modification of synaptic plasticity in visual cortex. Nature 1996; 381(6582): 526-8.
23. Prusky GT, West PWR, Douglas RM. Reduced visual acuity impairs place but not cued learning in the Morris water task. Behav Brain Res 2000; 116(2): 135-40.
24. Tees RC, Buhrmann K, Hanley J. The effect of early experience on water maze spatial learning and memory in rats. Dev Psychobiol 1990; 23(5): 427-39.
25. Rudy JW. Ontogeny of context-specific latent inhibition of conditioned fear - implications for configural associations' theory and hippocampal-formation development. Develop Psychobiol 1994; 27(6): 367-79.
26. Yang L, Pan Z, Zhou L, et al. Continuously changed genes during postnatal periods in rat visual cortex. Neurosci Lett 2009; 462(2): 162-5.

27. Manda K, Ueno M, Anzai K. Space radiation induced inhibition of neurogenesis in the hippocampal dentate gyrus and memory impairment in mice: Ameliorative potential of the melatonin metabolite, AFMK. J Pineal Res 2008; 45(4): 430-8.
28. Feng Y, Zhang LX, Chao DM. [Role of melatonin in spatial learning and memory in rats and its mechanism] Chinese [Abstract]. Sheng Li Xue Bao 2002; 54(1): 65-70.
29. Vanecek J, Kosar E, Vorlicek J. Daily changes in melatonin binding sites and the effect of castration. Mol Cell Endocrinol 1990; 73(2-3): 165-70.
30. Wan Q, Man HY, Liu F, et al. Differential modulation of GABAA receptor function by Mel 1a and Mel 1b receptors. Nat Neurosci 1999; 2(5): 401-3.
31. Podda MV, Deriu F, Giaconi E, et al. Melatonin inhibits rat medial vestibular nucleus neuron activity in vitro. Neurosci Lett 2003; 341(3): 209-12.
32. Argyriou A, Prast H, Philippu A. Melatonin facilitates short-term memory. Eur J Pharmacol 1998; 349(2-3): 159-62.
33. Han J, Xu Y, Yu CX, et al. Melatonin reverses the expression of morphine-induced conditioned place preference through its receptors within central nervous system in mice. Eur J Pharmacol 2008; 594(1-3): 125-31.
34. Nava F, Carta G. Melatonin reduces anxiety induced by lipopolysaccharide in the rat. Neurosci Lett 2001; 307(1): 57-60.
35. Song GH, Gwee KA, Moochhala SM, et al. Melatonin attenuates stress-induced defecation: lesson from a rat model of stress-induced gut dysfunction. Neurogastroenterol Motil 2005; 17(5): 744-50.

Downloaded from zjrms.ir at 16:43 +0430 on Sunday May 19th 2019

The effect of melatonin and luzindole on spatial learning and memory in rats treated with darkness

Mahmoud Salami[1], Gholamali Hamidi[2], S. Alireza Talaei-Zavareh[3]

Received: 5/May/2010
Accepted: 15/Jun/2010

Downloaded from zjrms.ir at 16:43 +0430 on Sunday May 19th 2019

***Background*:** During critical periods of growth, evolution dependent of sensory experience has a deep effect on the formation and proper function of mammal's CNS. The aim of this study is to assess the interaction of melatonin and its antagonist, luzindole on rat's spatial learning and memory processes treated in darkness using the Morris Water Maze (MWM).

***Materials and Method*:** This experimental study was carried out on 60 Wistar male rats of 45 days which randomly distributed in two groups. Animals of the control group experienced 12 hour-periods of darkness & light and the test group developed in complete darkness. Each group has 3 subgroups: Control, receiving Melatonin and receiving Luzindole (n=10 for each). Using MWM, the learning process and memory consolidation of animals were evaluated for 5 nights and 4 times each night.

Results: The results of this study showed that the learning stage in animals deprived of light phase needed more time to find the platform than the control group (p=0.011). Also, melatonin can increase this time in the control rats (p=0.012). Darkness treatment and melatonin were not effective on memory consolidation of these animals. Luzindole in control rats needed less time spending in the target quadrant (p=0.009).

***Conclusion*:** Darkness treatment causes impairment in spatial learning process in rats and melatonin will make it difficult spatial learning in control animals. None of the above two interventions are effective on the process of memory consolidation. [ZJRMS, 13(1): 10-16]

***Keywords*:** Darkness, photic stimulation, maze learning, melatonin, luzindole, rat

1. **Associate Professor of Physiology, Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences and Health Services, Kashan, Iran.**
2. **Asisstant Professor of Physiology, Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences and Health Services, Kashan, Iran.**
3. **Instructor of Physiology, Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences and Health Services, Kashan, Iran.**

Please cite this article as: Salami M, Hamidi G, Talaei-Zavareh SA. The effect of melatonin and luzindole on spatial learning and memory in rats treated with darkness. Zahedan J Res Med Sci (ZJRMS) 2010; 13(1):10-16.