



Effect of Interaction of Age and Changing in Visual Experience During Critical Period of Brain Development on Expression of Melatonin Receptors in Rat's Hippocampus

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Talaei S.A.* MSc,
Mohammadifar M.¹ BSc,
Azami A.² PhD,
Salami M.¹ PhD

How to cite this article

Talaei S.A, Mohammadifar M, Azami A, Salami M. Effect of Interaction of Age and Changing in Visual Experience During Critical Period of Brain Development on Expression of Melatonin Receptors in Rat's Hippocampus. Quarterly of the Horizon of Medical Sciences. 2015;21(3):163-168.

*Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

¹Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

²Anatomical Sciences Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

Correspondence

Address: Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Qotb e Ravandi Blvd., Kashan, Iran

Phone: +983155621157

Fax: +983155621157

talaei@kaums.ac.ir

Article History

Received: February 23, 2015

Accepted: May 29, 2015

ePublished: September 20, 2015

ABSTRACT

Aims Melatonin modulates the function of nervous system and its secretion is dependent to circadian rhythms and visual signals. The melatonin receptors are founded in many areas of the brain. During critical period of the brain development, the structure of mammals' brain is intensely affected by peripheral sensory signals. The aim of this study was to evaluate the effect of interaction of age and visual deprivation during critical period of brain development on melatonin receptors expression in rats' hippocampus.

Materials & Methods This experimental study was carried on 2 groups (n=36) of male Wistar rats kept in standard 12 hour light/dark condition (Light Reared-LR) or in complete darkness (Dark Reared-DR). The rats of each groups, were introduced into the experiments at 2, 4 and 6 weeks old of age. Expression of mRNA of both melatonin receptors, MT1 and MT2, in the hippocampus was evaluated by RT-PCR and using Western Blot technique, protein expression of those receptors was investigated. Data were analyzed by one-way ANOVA with Tukey post hoc tests.

Findings The relative expression of mRNA and protein of MT1 and MT2 receptors increased about 36% in the LR animals from 2 to 6 weeks old of age (p<0.001). The visual deprivation caused a decrease of 35% and 50% in expression of MT1 and MT2 from 2 to 6 weeks old of age, respectively (p<0.001 for both comparison).

Conclusion The relative expression of both melatonin receptors in rats' hippocampus increases across aging during critical period of brain development and visual deprivation reverses the pattern of melatonin receptors expression.

Keywords Melatonin; Receptor, Melatonin, MT2; Receptor, Melatonin, MT1; Critical Period (Psychology); Hippocampus; Rats

CITATION LINKS

[1] Sensitive and critical periods in visual sensory deprivation [2] Developmental inhibitory gate controls the relay of activity to the superficial layers of the visual cortex [3] Serotonin triggers a transient epigenetic mechanism that reinstates adult visual cortex plasticity in rats [4] Inhibitory threshold for critical-period activation in primary visual cortex [5] Critical periods in the visual system: Changing views for a model of experience-dependent plasticity [6] Molecular mechanism for loss of visual cortical responsiveness following brief monocular deprivation [7] Visual deprivation reactivates rapid ocular dominance plasticity in adult visual cortex [8] Experience-dependent reactivation of ocular dominance plasticity in the adult visual cortex [9] Synaptic plasticity, memory and the hippocampus: a neural network approach to causality [10] Sensory experience differentially underlies developmental alterations of LTP in CA1 area and dentate gyrus [11] Altered plasticity in hippocampal CA1, but not dentate gyrus, following long-term environmental enrichment [12] Melatonin--a pleiotropic, orchestrating regulator molecule [13] MT1 and MT2 melatonin receptors: Ligands, models, oligomers, and therapeutic potential [14] Physiological effects of melatonin: Role of melatonin receptors and signal transduction pathways [15] Decreased MT1 and MT2 melatonin receptor expression in extrapineal tissues of the rat during physiological aging [16] Responsiveness to melatonin and its receptor expression in the aging circadian clock of mice [17] Melatonin the "light of night" in human biology and adolescent idiopathic scoliosis [18] Role of melatonin in metabolic regulation [19] Melatonin receptors in rat hippocampus: Molecular and functional investigations [20] Brain and pituitary melatonin receptors in male rat during post-natal and pubertal development and the effect of pinealectomy and testosterone manipulation [21] Cloning experiments and developmental expression of both melatonin receptor Mel1A mRNA and melatonin binding sites in the Syrian hamster suprachiasmatic nuclei [22] Gene regulation of melatonin and dopamine receptors during eye development

تأثیر برهمکنش سن و تغییر در تجربه بینایی طی دوره بحرانی تکامل مغز بر بیان گیرنده‌های ملاتونین در هیپوکامپ موش صحرائی

سیدعلیرضا طلائی * MSc

مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

مژگان محمدی فر BSc

مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

ابوالفضل اعظمی PhD

مرکز تحقیقات علوم تشریح، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

محمود سلامی PhD

مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

چکیده

اهداف: ملاتونین نقش تعدیل‌کنندگی در عملکرد دستگاه عصبی داشته و ترشح آن از یک ریتم شبانه‌روزی و وابسته به پیام‌های بینایی پیروی می‌کند. حضور گیرنده‌های این هورمون در نواحی مختلف مغز نشان داده شده است. در دوره بحرانی تکامل مغز، ساختار مغز پستانداران به شدت تحت تأثیر پیام‌های حسی محیطی قرار می‌گیرد. هدف این مطالعه، بررسی تأثیر برهم‌کنش سن و محرومیت از بینایی در دوره بحرانی تکامل مغز بر بیان گیرنده‌های ملاتونین در هیپوکامپ موش صحرائی بود.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی روی ۳۶ سر موش صحرائی نر نژاد ویستار که در دو گروه پرورش‌یافته در سیکل ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و تاریکی کامل قرار گرفتند، انجام شد. حیوانات هر گروه در سنین ۲، ۴ و ۶ هفتگی (تعداد در هر گروه=۶ سر) وارد مطالعه شدند. بیان mRNA مربوط به گیرنده‌های ملاتونین MT1 و MT2، در هیپوکامپ با روش RT-PCR و بیان پروتئین آنها با روش وسترن‌بلات بررسی شد. داده‌ها توسط آزمون تحلیل واریانس چندمتغیره یک‌سویه به همراه آزمون توکی آنالیز شدند.

یافته‌ها: بیان نسبی mRNA و پروتئین گیرنده‌های MT1 و MT2 در حیوانات LR از سن ۲ تا ۶ هفتگی در حدود ۳۶٪ افزایش داشت ($p < 0.001$). محرومیت از بینایی باعث شد تا بیان MT1 به میزان ۳۵٪ و بیان MT2 به میزان ۵۰٪ از سن ۲ تا ۶ هفتگی کاهش یابد ($p < 0.001$) برای هر دو مقایسه).

نتیجه‌گیری: همزمان با افزایش سن در دوره بحرانی تکامل مغز، بر بیان هر دو گیرنده ملاتونین در ناحیه هیپوکامپ موش صحرائی افزوده می‌شود و محرومیت از بینایی این روند را معکوس می‌نماید.

کلیدواژه‌ها: ملاتونین، تجربه بینایی، دوره بحرانی، هیپوکامپ، موش صحرائی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۲/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۳/۰۸

* نویسنده مسئول: talaei@kaums.ac.ir

مقدمه

دوره بحرانی تکامل مغز، دوره‌های در ابتدای زندگی است که در آن برهم‌کنش فعالیت ذاتی سلول‌های عصبی و سیگنال‌های حسی محیطی منجر به بلوغ مدارهای سیناپسی پستانداران می‌شود[1]. برای مغز موش صحرائی، این بازه زمانی در حدود ۶ هفته در نظر گرفته می‌شود[2]. پستانداران برای برقراری ارتباط با محیط اطراف خود بیشتر بر سیستم بینایی تکیه کرده و بالطبع سیگنال‌های رسیده از آن بالاخص در دوران بحرانی تکامل مغز، نقش مهمی در بلوغ مدارهای مغزی ایفا می‌کنند[3]. نقش تکاملی این پیام‌ها در دوره بحرانی در مطالعات مختلف بررسی و اثبات شده است[4,5]. از طرف دیگر مطالعات مختلف نشان داده‌اند که تغییر در نحوه دریافت پیام‌های بینایی می‌تواند تکامل قشر مغز را تحت تأثیر قرار دهد[6-8]. ثابت شده است که همه قشرهای حسی، بخشی از پیام‌های خود را به تشکیلات هیپوکامپ (واقع در لوب گیجگاهی میانی) ارسال کرده و پس از پردازش اطلاعات در آن یادگیری و حافظه اتفاق می‌افتد[9]. همچنین برای هیپوکامپ نیز همانند قشرهای حسی یک دوره بحرانی تکامل در نظر گرفته می‌شود و نشان داده شده است که برخی تغییرات محیطی اعم از محرومیت‌های حسی[10] یا شلوغ‌سازی محیط زندگی (افزایش ورودی‌های حسی به مغز) باعث ایجاد تغییر در عملکرد نورون‌های این ناحیه می‌شود[11]. تغییر در تجربه بینایی باعث ایجاد تغییر در سیکل‌های سیرکادین شده و در نتیجه ترشح هورمون‌هایی که از ریتم سیرکادین پیروی می‌کنند نیز به هم می‌خورد. مهم‌ترین این هورمون‌ها ملاتونین است که نقش آن در تنظیم فعالیت دستگاه عصبی پستانداران به‌اثبات رسیده است[12]. اگر چه در بدن پستانداران، ملاتونین از طریق ده گیرنده‌های غشایی ملاتونین ۱ (MT1) و ۲ (MT2) و چندین گیرنده داخل‌سلولی اعمال خود را انجام می‌دهد، اما نقش گیرنده‌های غشایی بسیار پررنگ‌تر و بیشتر است[13]. حضور این گیرنده‌ها در نواحی مختلف سیستم مرکزی اعصاب و بالاخص در ناحیه هیپوکامپ در مطالعات مختلف نشان داده شده است[14]. مشخص شده است که بیان گیرنده‌های ملاتونین همزمان با تغییرات سن پستانداران در سیستم عصبی تغییر می‌کند[15]. به‌علاوه با در نظر گرفتن این نکته که ترشح این نوروهورمون از یک ریتم شبانه‌روزی پیروی می‌کند، میزان بیان گیرنده‌های آن در فازهای مختلف یک ریتم سیرکادین نیز متفاوت است[16]. تاکنون تغییرات بیان گیرنده‌های این هورمون همزمان با افزایش سن در دوره بحرانی تکامل مغز در ناحیه هیپوکامپ بررسی نشده و نیز معلوم نیست که این تغییرات تحت تأثیر تجربه بینایی قرار می‌گیرد یا نه. بنابراین هدف از انجام مطالعه حاضر، بررسی تأثیر برهم‌کنش سن و تجربه بینایی در دوره بحرانی تکامل مغز بر بیان هر دو گیرنده هورمون ملاتونین در هیپوکامپ موش صحرائی بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی روی ۳۶ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به منظور بررسی بیان ژن و پروتئین گیرنده‌های ملاتونین انجام گرفت. حیوانات مورد استفاده در حیوان‌خانه با دمای $22 \pm 2^\circ\text{C}$ و رطوبت $55 \pm 5\%$ و نیز دسترسی آزاد به آب و مواد غذایی نگهداری شده و به‌صورت تصادفی انتخاب و وارد مطالعه شدند. اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مطابق با معاهده تهران و نیز دستورالعمل‌های کمیته اخلاق معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان رعایت شد. همگی مواد شیمیایی مصرف‌شده از شرکت (سیگما-آلدריך؛ ایالات متحده) خریداری شده بودند. حیوانات واردشده در مطالعه از نظر نگهداری در شرایط نوری به دو گروه اصلی روشنایی (LR) و تاریکی (DR) تقسیم شدند. حیوانات LR از بدو تولد تا لحظه آزمایش در شرایط طبیعی حیوان‌خانه یعنی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی پرورش یافته بودند و موش‌های صحرایی گروه DR از لحظه تولد تا پایان آزمایش در تاریکی کامل (۲۴ ساعت) قرار گرفتند. هر گروه اصلی به سه زیرگروه (به‌تعداد ۶ سر) تقسیم شد. حیوانات یکی از این زیرگروه‌ها در سن ۲ هفته‌گی (2WLR) و 2WDR، گروه دوم در سن ۴ هفته‌گی (4WLR و 4WDR) و گروه سوم در سن ۶ هفته‌گی (6WLR و 6WDR) وارد مطالعه شدند. پس از بی‌هوش کردن حیوانات با اتر، سر آنها به‌وسیله گیوتین جدا می‌شد. در مدت‌زمان کمتر از ۳۰ ثانیه مغز از درون جمجمه خارج شده و در پتری‌دیش حاوی نرمال‌سالین 4°C قرار می‌گرفت. سپس، هر دو هیپوکامپ مغز به‌سرعت استخراج شده، با نیتروژن مایع فریز شده و تا زمان انجام آزمایشات در فریزر -80°C نگهداری شدند. برای بررسی بیان ژن‌های مربوط به گیرنده‌ها از روش RT-PCR استفاده شد؛ بدین صورت که ابتدا به‌وسیله کیت (peqGOLD RNAPure, Peqlab Co.; آلمان) تمام rRNA می‌نمونه‌ها استخراج شد. سپس میزان rRNA استخراج‌شده به‌روش اسپکتروفوتومتری (BioPhotometer plus, Eppendorf) سنجیده شد. در مرحله بعد، با استفاده از کیت (Rosche؛ آلمان) از نمونه‌ها cDNA تهیه شد. پس از آن، با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (peqSTAR 96X, Peqlab) Co. آلمان) واکنش PCR برای ژن‌های هدف و نیز ژن HPRT انجام شد. مراحل PCR به ترتیب عبارت بود از؛ مرحله واسرشت اولیه در دمای 94°C به‌مدت ۲ دقیقه، سپس سیکل‌های متوالی (به ترتیب ۳۳، ۳۰ و ۳۳ سیکل برای HPRT، MT1 و MT2) شامل واسرشت در دمای 94°C به‌مدت ۳۰ ثانیه، اتصال پرایمر به‌مدت ۴۵ ثانیه، گسترش در دمای 72°C به‌مدت ۴۵ ثانیه و در انتها گسترش نهایی در دمای 72°C به‌مدت ۷ دقیقه. مشخصات پرایمرهای مورد استفاده و نیز اندازه ژن هدف در جدول ۱ آورده شده است. در مرحله بعد، محصول PCR روی ژل آگاروز ۲٪ الکتروفورز شد و پس از رنگ‌آمیزی ژل با اتیدیوم‌بروماید، باندها در دستگاه UV tech

تأثیر برهمکنش سن و تغییر در تجربه بینایی طی دوره بحرانی تکامل مغز بر بیان گیرنده‌های ملاتونین در هیپوکامپ موش صحرایی ۱۶۵

مشاهده شده و از آنها تصویر تهیه شد. تصاویر مربوطه با استفاده از نرم‌افزار ImageJ 1.48 آنالیز شده و نسبت بیان هر ژن به ژن HPRT محاسبه شد.

جدول ۱) مشخصات پرایمرهای مربوط به ژن گیرنده‌های ملاتونین

اندازه ژن (کیلوباز) دمای اتصال ($^\circ\text{C}$)	توالی پرایمر
ژن HPRT (توالی مرجع در NCBI: NM_012583.2)	For: 5'-GGTCCATTCTATGACTGTAGATTTT-3' Rev: 5'-CAATCAAGACGTTCTTTCCAGTT-3'
ژن MT1 (توالی مرجع در NCBI: NM_053676.2)	For: 5'-CTGAGTGTTCATTTGGCTCGGT-3' Rev: 5'-AATGGAAAACCACCAGGGCA-3'
ژن MT2 (توالی مرجع در NCBI: NM_001100641.1)	For: 5'-CAGACAGCCAGCACCAATA-3' Rev: 5'-AGGCGTAGCTTTCTCTCAGC-3'

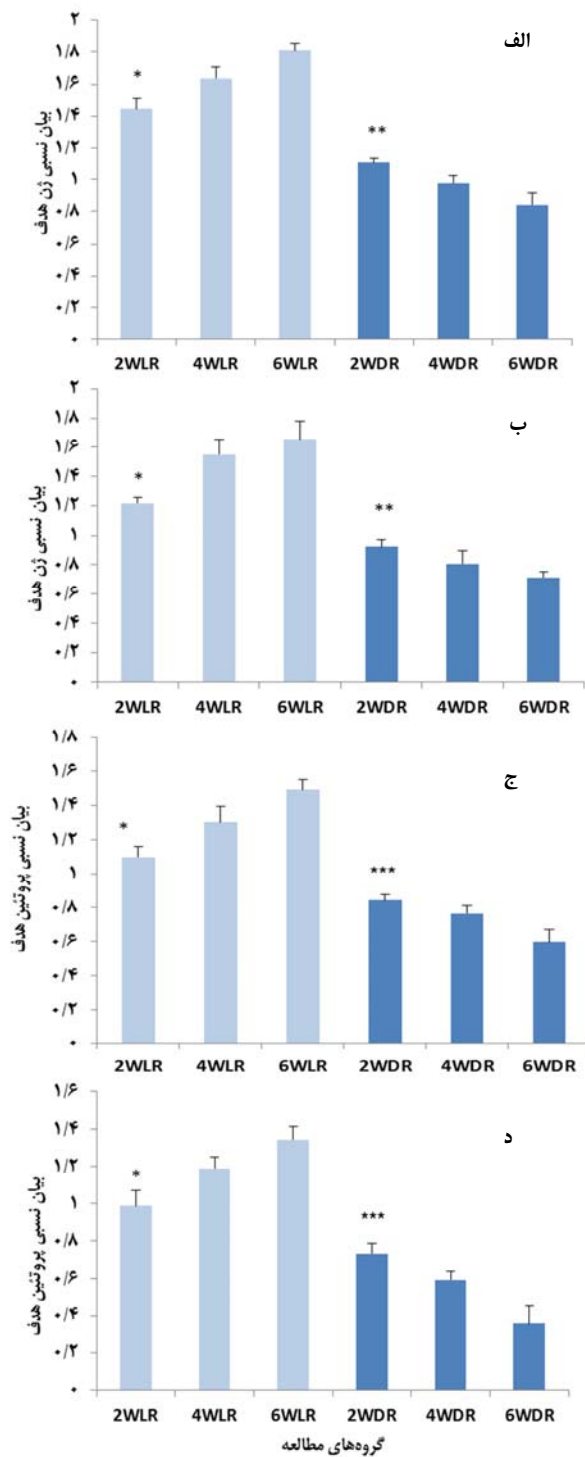
به‌منظور بررسی بیان پروتئین گیرنده‌های مذکور نیز از تکنیک وسترن‌بلات استفاده شد؛ بدین ترتیب که ابتدا پروتئین تام هیپوکامپ‌ها با استفاده از محلول RIPA (رادبو ایمنو پرسپیتیشن اسی) حاوی کوکتل آنتی‌پروتئاز (آپروتینین به‌میزان ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر، لویپتین به‌میزان ۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر، پیستاتین A به‌میزان ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر، PMSF (فنیل‌متیل سولفونیل فلوراید) به‌میزان یک میلی‌مول، EDTA به‌میزان ۵ میلی‌مول و سدیم‌ارتوانادات به‌میزان یک میلی‌مول) استخراج شد. برای سنجش میزان پروتئین استخراج‌شده از روش برادفورد استفاده شد. در مرحله بعد به تناسب، لاملی به نمونه‌ها اضافه شد و نمونه‌ها با تکنیک SDS-PAGE در ۱۲۰ ولت و برای مدت ۲ ساعت الکتروفورز شدند. برای انتقال پروتئین‌های بتا‌اکتین، MT1 و MT2 به کاغذ PVDF (پلی‌وینیل‌دین‌فلوراید؛ شرکت Roche؛ آلمان) از تکنیک ترانسفر نیمه‌خشک در ۱۰ ولت برای مدت ۳۵ دقیقه استفاده شد. سپس بلات‌ها با شیر بدون چربی ۵٪ تهیه‌شده در TBST (تریس بافر سالین و توتین) برای مدت یک ساعت بلاک شدند. در مرحله بعد بلات‌ها با آنتی‌بادی اولیه با رقت‌های ۱:۵۰۰، ۱:۱۰۰ و ۱:۲۰۰ به ترتیب برای بتا‌اکتین (Abcam؛ ایالات متحده) و MT1 و MT2 (Santa Cruz؛ ایالات متحده) در 4°C در طول شب انکوبه شدند. پس از آن بلات‌ها در TBST شسته شده و با آنتی‌بادی ثانویه (Abcam؛ ایالات متحده) با رقت ۱:۳۰۰۰ به‌مدت یک ساعت در دمای اتاق انکوبه شدند. دوباره بلات‌ها در TBST (سه مرحله ۱۰ دقیقه‌ای) و PBS (یک مرحله ۱۰ دقیقه‌ای) شسته شده و با محلول کمی‌لومینسانس (AceGlow, Peqlab Co.; آلمان) آغشته شده، در تاریک‌خانه در مجاورت فیلم عکاسی قرار گرفته و سپس فیلم‌ها ظاهر شدند. فیلم‌ها اسکن شده و تصاویر مربوطه با استفاده از

نرم افزار IamgeJ 1.48 آنالیز شده و نسبت بیان هر پروتئین به پروتئین بتاآکتین محاسبه شد. داده‌های حاصل با استفاده از آزمون تحلیل واریانس چندمتغیره یک‌سویه به‌همراه پس‌آزمون توکی آنالیز شده و $p < 0.05$ معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها

اختلاف بین میانگین بیان نسبی ژن گیرنده MT1 در هیپوکامپ موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف معنی‌دار بود ($p < 0.0001$). بیان mRNA گیرنده MT1 از $1/45 \pm 0.07$ در هیپوکامپ موش‌های صحرایی گروه 2WLR به $1/81 \pm 0.04$ در هیپوکامپ موش‌های صحرایی گروه 6WLR رسید ($p < 0.0001$). آنالیز آماری نشان داد که اختلاف بین گروه‌های 2WLR و 4WLR و نیز اختلاف بین گروه‌های 4WLR و 6WLR برای بیان نسبی ژن گیرنده MT1 معنی‌دار نبود (نمودار الف). نگهداری حیوانات در تاریکی مطلق از بدو تولد، روند بیان ژن گیرنده مذکور را معکوس کرد؛ به طوری که بیان نسبی mRNA این گیرنده از $1/10 \pm 0.03$ در گروه 2WDR به 0.84 ± 0.07 در گروه 6WDR رسید ($p < 0.01$). همچنین اختلاف بین گروه‌های 2WDR و 4WDR و نیز اختلاف بین گروه‌های 4WDR و 6WDR برای بیان نسبی ژن گیرنده MT1 معنی‌دار نبود. با مقایسه بین گروهی بیان ژن گیرنده MT1 نیز مشخص شد که بیان این ژن در حیوانات تاریکی در مقایسه با گروه‌های روشنایی همسن پایین‌تر بود ($p < 0.001$ برای هر سه مقایسه).

همزمان با افزایش سن بر روند بیان نسبی ژن MT2 در هیپوکامپ در گروه‌های روشنایی افزوده شد و از بیان ژن در گروه‌های تاریکی کاسته شد (نمودار ب). به‌علاوه، آنالیز آماری داده‌ها حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین بیان نسبی ژن زیرواحد مذکور در گروه‌های مختلف آزمایش بود ($p < 0.0001$). بیان mRNA گیرنده مذکور از $1/22 \pm 0.04$ در هیپوکامپ موش‌های صحرایی گروه 2WLR به $1/65 \pm 0.12$ در هیپوکامپ موش‌های صحرایی گروه 6WLR رسید ($p < 0.0001$). پس‌آزمون توکی نشان داد که اختلاف بین گروه‌های 2WLR و 4WLR و نیز اختلاف بین گروه‌های 4WLR و 6WLR برای بیان نسبی ژن این گیرنده معنی‌دار نبود. همچنین بیان نسبی mRNA این گیرنده از 0.93 ± 0.05 در گروه 2WDR به 0.71 ± 0.04 در گروه 6WDR رسید ($p < 0.01$). آنالیز آماری نشان داد که اختلاف بین گروه‌های 2WDR و 4WDR و نیز اختلاف بین گروه‌های 4WDR و 6WDR برای بیان نسبی ژن گیرنده MT2 معنی‌دار نبود. با مقایسه بین گروهی بیان ژن گیرنده MT2 نیز مشخص شد که بیان این ژن در حیوانات تاریکی در مقایسه با گروه‌های روشنایی همسن پایین‌تر بود ($p < 0.001$ برای هر سه مقایسه).



نمودار ۱ میزان بیان نسبی ژن گیرنده MT1 (الف)، ژن گیرنده MT2 (ب)، پروتئین گیرنده MT1 (ج) و پروتئین گیرنده MT2 (د) در هیپوکامپ حیوانات گروه‌های مختلف آزمایش (*معنی‌داری بین گروه‌های 2WLR و 6WLR در سطح $p < 0.001$; **معنی‌داری بین گروه‌های 2WDR و 6WDR در سطح $p < 0.01$; ***معنی‌داری بین گروه‌های 2WDR و 6WDR در سطح $p < 0.001$ ؛ در مقایسه بین گروهی نیز اختلاف بین گروه‌های همسن تاریکی و روشنایی در سطح $p < 0.001$ معنی‌دار بود)

اینجاست که نیمه‌عمر ملاتونین در گردش بین ۳۰ تا ۵۰ دقیقه است و مطالعات انجام‌شده در پستانداران، بالاخص انسان، نشان می‌دهد که مواجه‌شدن با تنها یک سیگنال نوری در فاز تاریکی، ترشح آن را به شدت سرکوب می‌کند^[18]. بالطبع تغییر غلظت هورمون در گردش می‌تواند فعالانه و از طریق مکانیزم‌های تنظیم کاهشی و افزایشی، بیان گیرنده‌های آن را تغییر دهد. گیرنده‌های کلاسیک ملاتونین MT1 و MT2، به‌عنوان گیرنده‌های غشایی متصل‌شونده به G پروتئین‌ها عمل کرده و حضور آنها در تمامی نقاط مغز پستانداران، بالاخص در ناحیه هیپوکامپ محرز شده است^[12]. موسشاف و همکاران با استفاده از تکنیک RT-PCR نشان داده‌اند که هر دو گیرنده ملاتونین در نواحی مختلف هیپوکامپ موش صحرایی وجود دارند^[19]. براساس مطالعات ما، اگر چه تغییرات بیان گیرنده‌های ملاتونین همزمان با افزایش در برخی اندام‌های بدن پستانداران در مطالعات محدودی نشان داده شده است، اما تاکنون مطالعه‌ای به‌منظور بررسی تغییرات بیان گیرنده‌های مذکور در ناحیه هیپوکامپ انجام نشده است. زیتونی و همکاران بیان کرده‌اند که اگر چه بیان گیرنده‌های ملاتونین در هسته سوپراکیسماتیک (SCN) مغز موش آزمایشگاهی طی دوران جنینی روند رو به رشدی دارد، اما بیان آنها پس از تولد به شدت کاهش یافته، تا سن یک‌ماهگی تغییر چندانی نمی‌کند و پس از آن طی یک دوره یک‌ماهه دیگر افزایش یافته تا مغز به بلوغ برسد و دوباره بیان آنها ثابت می‌ماند^[20]. در مطالعه دیگری نشان داده شده است که بیان گیرنده MT1 در SCN همستر از بدو تولد تا ۶۰ روزگی کاهش می‌یابد^[21]. فوجیبا و همکاران نیز بیان کرده‌اند که اگر چه بیان هر دو گیرنده ملاتونین در چشم موش صحرایی یک روند کاهش‌یابنده از سن ۱۴ تا ۶۰ روزگی دارد، اما کاهش بیان MT2 واضح‌تر است^[22].

با توجه به اینکه قشر جدید مغز نیز درگیر در فرآیندهای یادگیری و تشکیل حافظه است، پیشنهاد می‌شود تاثیر تغییر در ریتم‌های شبانه‌روزی و تغییر در ریتم دریافت نور بر بیان گیرنده‌های ملاتونین در قشر بینایی نیز بررسی شود.

نتیجه‌گیری

همزمان با افزایش سن در دوره بحرانی تکامل مغز، بر بیان هر دو گیرنده ملاتونین در ناحیه هیپوکامپ موش صحرایی افزوده می‌شود و محرومیت از بینایی این روند را معکوس می‌نماید.

تشکر و قدردانی: نویسندگان مقاله، از همکاری‌های بی‌دریغ معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان کمال تشکر و قدردانی را به‌عمل می‌آورند.

تاییدیه اخلاقی: اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی مطابق با معاهده تهران و نیز دستورالعمل‌های کمیته اخلاق معاونت پژوهشی

اختلاف بین میانگین بیان نسبی پروتئین MT1 در هیپوکامپ در گروه‌های مختلف معنی‌دار بود ($p < 0.001$). بیان نسبی این پروتئین همزمان با افزایش سن در گروه LR در حدود ۳۶٪ افزایش یافت (نمودار ۱ج). به‌بیان دیگر، اختلاف بین گروه‌های 2WLR و 6WLR معنی‌دار بود ($p < 0.01$) و این در حالی است که اختلاف بین گروه‌های 2WLR و 4WLR و نیز 4WLR و 6WLR معنی‌دار نبود. نگهداری حیوانات در تاریکی مطلق باعث معکوس‌شدن روند بیان پروتئین MT2 در هیپوکامپ موش‌های صحرایی شد و بیان آن از 0.84 ± 0.03 در گروه 2WDR با ۳۵٪ کاهش به 0.56 ± 0.04 در گروه 6WDR رسید ($p < 0.01$). به‌علاوه، با مقایسه بین گروهی بیان پروتئین گیرنده MT1 نیز مشخص شد که بیان آن در حیوانات تاریکی در مقایسه با گروه‌های روشنایی همسن پایین‌تر بود ($p < 0.01$) برای هر سه مقایسه).

بیان نسبی پروتئین گیرنده MT2 در هیپوکامپ موش‌های صحرایی در گروه‌های روشنایی به‌صورت وابسته به زمان افزایش داشت و از بیان آن در گروه‌های تاریکی کاسته شد (نمودار ۱د). آنالیز آماری داده‌ها حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار بین میانگین بیان نسبی پروتئین مذکور در گروه‌های مختلف آزمایش بود ($p < 0.001$). نتایج پس‌آزمون توکی نیز حاکی از وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه 2WLR و گروه 6WLR ($p < 0.01$) بود و این در حالی است که اختلاف بین گروه‌های 2WLR و 4WLR و نیز 4WLR و 6WLR معنی‌دار نبود. محرومیت حیوانات از نور باعث شد تا بیان پروتئین این گیرنده از 0.73 ± 0.05 در گروه 2WDR با ۵۰٪ کاهش به 0.35 ± 0.03 در گروه 6WDR برسد ($p < 0.01$). به‌علاوه، بررسی داده‌ها نشان داد که اختلاف بین گروه‌های 2WDR و 4WDR و نیز 4WDR و 6WDR معنی‌دار نبود.

بحث

در پژوهش حاضر تاثیر برهم‌کنش سن و تغییر در تجربه بینایی در دوره بحرانی تکامل مغز بر بیان گیرنده‌های نورهورمون ملاتونین در ناحیه هیپوکامپ موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد در موش‌های صحرایی که در شرایط طبیعی حیوان‌خانه نگهداری شده بودند، طی یک روند وابسته به زمان از سن ۲ هفته‌گی تا پایان ۶ هفته‌گی بر میزان بیان ژن و پروتئین هر دو گیرنده ملاتونین MT1 و MT2، در حدود ۳۶٪ افزوده شده است. همان گونه که انتظار می‌رفت نگهداری موش‌های صحرایی در تاریکی کامل باعث معکوس‌شدن روند بیان ژن و پروتئین هر دو گیرنده در هیپوکامپ از سن ۲ تا ۶ هفته‌گی شد. ترشح ملاتونین، نورهورمون مترشحه از غده پینه‌آل، از یک ریتم شبانه‌روزی پیروی می‌کند؛ بدین ترتیب که بیشترین میزان ترشح آن در فاز تاریکی ریتم سیرکادین و قبل از نیمه‌شب صورت می‌گیرد^[17]. جالب

long-term environmental enrichment. *J Neurophysiol.* 2010;103(6):3320-9.

12- Hardeland R, Cardinali DP, Srinivasan V, Spence DW, Brown GM, Pandi-Perumal SR. Melatonin--a pleiotropic, orchestrating regulator molecule. *Prog Neurobiol.* 2011;93(3):350-84.

13- Zlotos DP, Jockers R, Cecon E, Rivara S, Witt-Enderby PA. MT1 and MT2 melatonin receptors: Ligands, models, oligomers, and therapeutic potential. *J Med Chem.* 2014;57(8):3161-85.

14- Pandi-Perumal SR, Trakht I, Srinivasan V, Spence DW, Maestroni GJM, Zisapel N, et al. Physiological effects of melatonin: Role of melatonin receptors and signal transduction pathways. *Prog Neurobiol.* 2008;85(3):335-53.

15- Sánchez-Hidalgo M, Guerrero Montávez JM, Carrascosa-Salmoral Mdel P, Naranjo Gutierrez Mdel C, Lardone PJ, de la Lastra Romero CA. Decreased MT1 and MT2 melatonin receptor expression in extrapineal tissues of the rat during physiological aging. *J Pineal Res.* 2009;46(1):29-35.

16- Benlucif S, Masana MI, Dubocovich ML. Responsiveness to melatonin and its receptor expression in the aging circadian clock of mice. *Am J Physiol.* 1997;273(6 Pt 2):R1855-60.

17- Grivas TB, Savvidou OD. Melatonin the "light of night" in human biology and adolescent idiopathic scoliosis. *Scoliosis.* 2007;2:6.

18- Korkmaz A, Topal T, Tan DX, Reiter RJ. Role of melatonin in metabolic regulation. *Rev Endocr Metab Disord.* 2009;10(4):261-70.

19- Musshoff U, Riewenherm D, Berger E, Fauteck JD, Speckmann EJ. Melatonin receptors in rat hippocampus: Molecular and functional investigations. *Hippocampus.* 2002;12(2):165-73.

20- Zitouni M, Pevet P, Masson-Pevet M. Brain and pituitary melatonin receptors in male rat during post-natal and pubertal development and the effect of pinealectomy and testosterone manipulation. *J Neuroendocrinol.* 1996;8(8):571-7.

21- Gauer F1, Schuster C, Poirel VJ, Pévet P, Masson-Pévet M. Cloning experiments and developmental expression of both melatonin receptor Mel1A mRNA and melatonin binding sites in the Syrian hamster suprachiasmatic nuclei. *Brain Res Mol Brain Res.* 1998;60(2):193-202.

22- Fujieda H, Scher J, Lukita-Atmadja W, Brown GM. Gene regulation of melatonin and dopamine receptors during eye development. *Neuroscience.* 2003;120(2):301-7.

دانشگاه علوم پزشکی کاشان رعایت شد و همچنین طرح تحقیقاتی مذکور به تایید کمیته اخلاق معاونت پژوهشی این دانشگاه رسید.

تعارض منافع: نویسندگان مقاله هیچ گونه تضاد منافی ندارند.

منابع مالی: هزینه انجام این مطالعه از طریق طرح تحقیقاتی شماره ۹۱۵۴ به وسیله معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان تامین شده است.

منابع

- 1- Voss P. Sensitive and critical periods in visual sensory deprivation. *Front Psychol.* 2013;4:664.
- 2- Rozas C, Frank H, Heynen AJ, Morales B, Bear MF, Kirkwood A. Developmental inhibitory gate controls the relay of activity to the superficial layers of the visual cortex. *J Neurosci.* 2001;21(17):6791-801.
- 3- Maya Vetencourt JF, Tiraboschi E, Spolidoro M, Castrén E, Maffei L. Serotonin triggers a transient epigenetic mechanism that reinstates adult visual cortex plasticity in rats. *Eur J Neurosci.* 2011;33(1):49-57.
- 4- Fagiolini M, Hensch TK. Inhibitory threshold for critical-period activation in primary visual cortex. *Nature.* 2000;404(6774):183-6.
- 5- 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.
- 6- Heynen AJ, Yoon BJ, Liu CH, Chung HJ, Huganir RL, Bear MF. Molecular mechanism for loss of visual cortical responsiveness following brief monocular deprivation. *Nat Neurosci.* 2003;6(8):854-62.
- 7- He HY, Hodos W, Quinlan EM. Visual deprivation reactivates rapid ocular dominance plasticity in adult visual cortex. *J Neurosci.* 2006;26(11):2951-5.
- 8- Baroncelli L, Sale A, Viegi A, Maya Vetencourt JF, De Pasquale R, Baldini S, et al. Experience-dependent reactivation of ocular dominance plasticity in the adult visual cortex. *Exp Neurol.* 2010;226(1):100-9.
- 9- Neves G, Cooke SF, Bliss TV. Synaptic plasticity, memory and the hippocampus: a neural network approach to causality. *Nat Rev Neurosci.* 2008;9(1):65-75.
- 10- Talaei SA, Salami M. Sensory experience differentially underlies developmental alterations of LTP in CA1 area and dentate gyrus. *Brain Res.* 2013;1537:1-8.
- 11- Eckert MJ, Bilkey DK, Abraham WC. Altered plasticity in hippocampal CA1, but not dentate gyrus, following