AUMJ
Alborz University of Medical Sciences
نشریه دانشگاه علوم پزشکی البرز، پاییز ۱۴۰۱ ، سال ۱۱، شماره ۴، صفحه‌های ۴۶۹ - ۴۷۹
مقاله تحقیقی

بررسی اثرات محافظتی ملاتونین بر اختلال حافظه ناشی از استرس قبل از تولد در نوزادان رات

مینا کیاروستا [۱]، علی حسینی شریف آباد [۲*]، محمد ربانی [۳]

[۱] دکترای عمومی داروسازی، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۲] دانشیار گروه فارماکولوژی- سم شناسی ، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۳] استاد گروه فارماکولوژی – سم شناسی ، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۱/۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۳/۳

چکیده

زمینه و هدف: زنان باردار انواع مختلفی از استرس را تجربه می کنند که بر پروسه های فیزیولوژیکی مغز جنین نظیر حافظه تاثیر می گذارند. بنابراین استفاده از ترکیبات ایمن در دوران بارداری جهت مقابله با آسیب های رفتاری در دوران پس از تولد اهمیت بسزایی دارد. در این مطالعه اثرات تجویز ملاتونین در دوران بارداری بر آسیب حافظه ناشی از استرس دوران بارداری در نوزادان رات بررسی شده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی رات های ماده باردار بصورت تصادفی در گروه کنترل، گروه تحت استرس، و چهار گروه دریافت کننده ملاتونین بترتیب دوزهای ۳، ۵، ۱۰ و یا ۵۰ میلیگرم/کیلوگرم بهمراه استرس محدود کننده قرار گرفتند. گروه های تحت استرس محدود کننده حرکتی از روز ۱۰ام تا ۲۱ام بارداری روزانه متحمل استرس می شدند. ملاتونین در این دوره، روزانه به شکل داخل صفاقی، قبل از تحمیل استرس تزریق می شد. یک ماه پس از تولد نوزادان، حافظه آنها به روش تست تشخیص شی جدید و با اندازه گیری فاکتورهای "تمایز" و "تشخیص" بررسی گردید.

یافته‌ها: دوزهای ۳ و ۵ میلیگرم/کیلوگرم ملاتونین تفاوت معنی داری در فاکتورهای تمایز و تشخیص در مقایسه با گروه تحت استرس نشان نداد لیکن دوزهای ۱۰ و ۵۰ میلیگرم/کیلوگرم ملاتونین این فاکتورها را بمیزان قابل توجهی افزایش دادند ($P<0.001$). بین دوزهای ۱۰ و ۵۰ از این نظر اختلاف معنی داری وجود نداشت.

نتیجه گیری: اگرچه استرس محدود کننده حرکتی در دوران بارداری منجر به اختلال حافظه در نوزادان یک ماهه شد ولی دوزهای بالای ملاتونین به خوبی از ایجاد این آسیب جلوگیری کرد.

کلمات کلیدی: ملاتونین، استرس محدود کننده، حافظه، نوزاد رات، تست تشخیص اشیاء

***نویسنده مسئول:**
دانشیار گروه فارماکولوژی- سم شناسی ، دانشکده داروسازی و مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۰۹۱۲۲۵۱۴۴۷۳
Email:hosseini_a@pharm.mui.ac.ir

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-10-30]

[DOI: 10.52547/aums.11.4.469]

مقدمه

استرس و اختلالات مرتبط با آن، شایع ترین مشکل روانی زنان در دوران بارداری می باشد[۱و۲]. زنان باردار بویژه در جوامع در حال توسعه، تحت تاثیر انواع مختلفی از استرس قرار می گیرند. استرس های درازمدت چه در زنان غیر باردار و چه در زنان باردار باعث اختلالات سیستمیک متنوعی در خود فرد می شود. بعلاوه استرس در دوران بارداری می تواند منجر به اثرات منفی در نوزادان گردد، که برخی از این عوارض مانند کاهش وزن نوزادان، قابل برگشت و برخی همچون اختلالات رفتاری و روانی، ماندگار خواهد بود[۳]. اختلالات بوجود آمده از استرس مزمن می تواند تمام ارگان ها را درگیر کند و منجر به وقایعی همچون زخم های گوارشی، سوء هاضمه، افسردگی، تغییرات فشار خون و آریتمی های قلبی، نارسایی کبدی و کلیوی، اختلالات هورمونی و... شود[٤]. یکی از مهمترین تظاهرات ایجاد شده توسط استرس، اثرات مخرب آن بر سیستم عصبی مرکزی و پروسه های فیزیولوژیک آن می باشد که منجر به اختلالات روانی و رفتاری خواهد شد[۵و٦]. این مشکلات اگر چه هم مادر و هم نوزاد را درگیر می کنند، لیکن بدلیل اینکه مغز جنین فعالانه در حال رشد است و دربرگیرنده تقسیم و رشد نورون هاست، می تواند تاثیر بیشتری را بپذیرد. این اثرات ممکن است در همان ابتدای تولد قابل رویت باشد و یا اینکه برای تشخیص آن لازم است مدت زمانی سپری شود تا بتوان از روی عدم انطباق فعالیت های نوزاد با الگوی طبیعی، آنها را تشخیص داد. نشان داده شده است که استرس مزمن باعث کاهش تعداد نورون ها، زواید و چین های آنها، سیناپس ها یا به عبارتی کاهش نوروپلاستیسیتی و همچنین تحلیل بخش هایی از مغز، نظیر هیپوکامپ می شود [۳و۷]. اما این اختلالات می توانند در برگیرنده عملکرد رفتاری و روانی نیز شوند. یکی از پروسه های بسیار مهم که می تواند متاثر از استرس در دوران بارداری شود، قدرت یادگیری و حافظه نوزاد است [۸]. تغییر در میزان هورمون های گلوکوکورتیکوئیدی مادر، اختلال در عملکرد محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال و بدنبال آن به هم خوردن خواب طبیعی مادر، برخی از علت های اثر منفی استرس بر حافظه نوزاد می باشد [۸و۹]. همچنین استرس مزمن می تواند باعث افزایش تولید رادیکال های آزاد اکسیژن و القای استرس اکسیداتیو شود که در صورت عدم درمان، نهایتا آپوپتوز و از بین رفتن نورون ها را بدنبال دارد [۱۰و۱۱].

حافظه و یادگیری دو مورد از پروسه های مهم مغزی هستند که در نوزادان مورد توجه می باشد و شکل گیری صحیح آنها می تواند روی بقیه فعالیت های فرد و مهارت انجام کارها نیز تاثیر بگذارد. اهمیت این فرایندها بحدی است که حتی در صورت عملکرد نرمال کودک در این موارد، والدین در صدد تجویز موادی جهت تقویت یادگیری و حافظه فرزند خود برمی آیند. از مراکزی که در یادگیری و حافظه فرد نقش دارد، هیپوکامپ و قشر مغز می باشد. این دو مرکز می توانند شدیدا متاثر از میزان کورتیکواستروئیدهای سرمی قرار گیرند [۱۲].

با توجه به نکات ذکر شده فوق مبنی بر شیوع استرس دوران بارداری، تاثیر شدت یافته آن در این دوران بر مغز جنین، اختلال فعالیت های رفتاری این نوزادان، اگر بتوان دارویی ایمن برای مادر و جنین را یافت که از عوارض بی بدیل استرس در دوران بارداری بکاهد، اهمیت ویژه و کاربردی دارد.

ملاتونین (۵-متوکسی N-استیل تریپتامین) یک هورمون عصبی چربی دوست می باشد که توسط غده پینه ال در طول شب سنتز و ترشح می شود [۱۳]. ملاتونین نخستین بار توسط Aaron Lener در اواخر سال ۱۹۵۰ شناخته شد،که در بیشتر مهره داران بصورت ریتمیک سطح و فعالیت آن در شب افزایش می یابد، به همین دلیل به آن «هورمون شبانه» می گویند. این هورمون نقش خواب آوری و ضد اضطرابی را در بدن ایفا می کند [۱٤] و اثرات خود را با تحریک گیرنده های مخصوص به خود که شامل MT1 و MT2 می باشد، بر جای می گذارد [۱۵]. در کنار این عمل ملاتونین، اثرات بارز آنتی اکسیدانی و ضد رادیکال آزاد برای آن متصور هستند که میتواند به عملکرد نوروپروتکتیو منجر شود [۱٤]. ملاتونین به راحتی از جفت عبور می کند [۱۵و۱٦]. لیکن اثرات منفی بر جنین بر جای نمی گذارد و به عنوان ماده ای ایمن در بارداری به حساب می آید [۱۷]. اگرچه مطالعاتی وجود دارد که اثرات محافظتی ملاتونین را در مقابل نوروتوکسیکانت های مختلف نظیر سرب به اثبات رسانیده است [۱۸]، ولی شواهدی مبنی بر اثرات مفید آن در دوران بارداری بر عملکرد رفتاری نوزادانی که در دوران جنینی خود در معرض استرس بوده اند، وجود ندارد.

مواد و روش‌ها

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-10-30]

[DOI: 10.52547/aums.11.4.469]

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹۷ بر روی موش های صحرایی نژاد ویستار با وزن ۲۲۰-۱۸۰ گرم در آزمایشگاه گروه فارماکولوژی و سم شناسی دانشکده داروسازی اصفهان انجام شد. حیوانات در لانه مخصوص نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده داروسازی اصفهان و در شرایط استاندارد اعم از دمای ۲۹-۲۲ درجه سانتیگراد، رطوبت ۳۵-۲۵ درصد و سیکل خاموشی-روشنایی ۱۲ ساعته نگهداری می شدند.

آنها دسترسی کافی به غذای عادی و آب آشامیدنی داشتند. غذا و آب مصرفی برای تمام حیوانات مورد استفاده در این مطالعه یکسان بود. مطالعه با کد IR.MUI.REC.1396.3.771 مورد تصویب کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اصفهان قرار گرفت و در آن بر طبق آیین نامه های کمیته ملی اخلاق در خصوص کار با حیوانات آزمایشگاهی با حیوانات رفتار شد.

۲٤ رات ماده در سنین باروری بصورت تصادفی به ٦ گروه ٤ تایی تقسیم شدند و هر ٤ رات در یک قفس بزرگ نگهداری می شدند. پس از سه روز به هر قفس یک رات نر بالغ جهت جفت گیری وارد شد. با کمک کارشناس حرفه ای، بارداری رات های ماده تشخیص داده شد و روز مشاهده پلاک واژینال به عنوان روز صفر بارداری در نظر گرفته شد.

گروه های رات های ماده شامل گروه کنترل، استرس و گروه های دریافت کننده دوزهای مختلف ملاتونین می شدند که با آنها از روز ۱۱ ام تا ۲۱ ام بنحو زیر برخورد شد:

گروه کنترل: عدم مواجهه با استرس و دریافت حامل ملاتونین بصورت داخل صفاقی

گروه استرس محدود کننده حرکتی: دریافت روزانه حامل ملاتونین بصورت داخل صفاقی و سپس مواجهه با استرس

گروه های دریافت کننده ملاتونین: چهار گروه از رات های ماده باردار بترتیب دریافت روزانه ملاتونین با دوزهای ۳، ۵، ۱۰ و یا ۵۰ میلیگرم بر کیلوگرم داخل صفاقی و سپس مواجهه با استرس محدود کننده حرکتی

در روز آخر بارداری، هر رات باردار در یک قفس جدا قرار داده شد. مادر و نوزادان پس از تولد به خوبی مورد ارزیابی قرار گرفتند و تعداد کل نوزادان، نوزادان مرده و زنده ثبت شد. پس از گذشت ۱ ماه از تولد، نوزادان نر از مادرانی که در گروه یکسان قرار داشتند، تجمیع شدند. از این نوزادان، ۱۲ نوزاد نر بصورت تصادفی انتخاب گردید و در گروه های مربوطه قرار گرفتند. بدین ترتیب ٦ گروه ۱۲ تایی از نوزادان رات حاصل شد که بترتیب مادران آنها در دوران بارداری در گروه های کنترل، استرس و یا دریافت کننده دوزهای ملاتونین بر اساس آنچه در بالا توضیح داده شد، قرار می گرفتند.

استرس محدود کننده حرکتی، با استفاده از وسیله محدود کننده مخصوص رات که بشکل یک لوله هست، صورت گرفت. این لوله در قسمت جلویی جهت تهویه و تنفس راحت رات بصورت مشبک است و در قسمت خلفی جهت تنظیم طول با توجه به اندازه رات دارای تیغه ای متحرک است. در این مطالعه جهت القای استرس، رات ها روزانه برای سه دوره ی ٤٥ دقیقه ای با فواصل ۱۵ دقیقه، در لوله محدود کننده قرار می گرفتند.

بصورت تکمیلی، یک گروه ٦ تایی از رات های ۱ ماهه سالم بعنوان گروه کنترل منفی در نظر گرفته شدند و به آنها نیم ساعت قبل از انجام تست ارزیابی حافظه، ۱ میلیگرم بر کیلوگرم اسکوپولامین بصورت داخل صفاقی تزریق شد. این گروه جهت اعتبار سنجی روش بررسی حافظه، در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت.

جهت ارزیابی حافظه و عملکرد شناختی نوزادان ۱ ماهه از روش تست تشخیص شیء جدید (Object Recognition Task) استفاده شد. این روش بر مبنای تمایل حیوان جهت اکتشاف شیء جدید نسبت به شیء آشنا می باشد.

تست تشخیص شیء جدید در یک عرصه دایره ای به قطر ۸۳ سانتیمتر انجام می پذیرد که دیواری با ارتفاع ٤٠ سانتی متر دارد. در قسمت فوقانی مرکز این دایره دوربینی نصب شده است که به کامپیوتر متصل می باشد. کلیه حرکات حیوان توسط این دوربین ضبط می شود تا بعدا مورد آنالیز قرار گیرد. در این تست از دو سری متفاوت اشیاء استفاده می شود که از هر سری ۳ کپی وجود دارد. اشیاء به گونه ای هستند که حیوان قادر به حرکت دادن آنها نیست. در کف عرصه دو محل فرضی بصورت متقارن و هر کدام در فاصله ۱۰ سانتی متری از دیواره وجود دارد که هر کدام محل قرار گیری یک شیء می باشد [۱۹ و ۲۰].

یک هفته قبل از انجام تست، جهت آشنایی حیوانات با محیط عرصه آزمایش به آنها اجازه داده می شود روزانه ۲ مرتبه و هر مرتبه به مدت ۳ دقیقه در دستگاه بدون شیء جستجو کنند.

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-10-30]

[DOI: 10.52547/aums.11.4.469]

آزمون حافظه از ۲ مرحله تشکیل شده است که مدت زمان هر مرحله ۳ دقیقه و بین هر مرحله ٦٠ دقیقه فاصله است. در مرحله اول (T1) دو شیء یکسان در دستگاه قرار گرفته و به حیوان اجازه داده می شود که اشیاء را اکتشاف کند. اکتشاف شیء به این صورت تعریف می شود که رات شیء را با بینی خود لمس کند و یا بینی خود را به شیء نزدیک کند در حالیکه فاصله آن تا شیء کمتر یا برابر ۲ سانتی متر باشد. نشستن روی شیء یا بالارفتن از آن جزء رفتار اکتشافی محاسبه نمی شود. حیوان پس از کاوش اولیه به قفس بازگردانده می شود. پس از گذشت ٦٠ دقیقه از مرحله اول موش برای مرحله دوم (T2) وارد دستگاه می گردد. اما حالا با دو شیء متفاوت که یکی کپی سوم از شیء آشنا و دیگری شیء جدید است، مواجه می شود. به حیوان اجازه داده می شود که بار دیگر اشیاء را بمدت سه دقیقه کاوش کند. در مراحل T1 و T2، کل مدت زمان اکتشاف اشیاء، مدت زمان اکتشاف شیء جدید، مدت زمان اکتشاف شیء قدیم و فرکانس لمس هر کدام از اشیاء توسط حیوان محاسبه می شود. در صورتی که مجموع مدت زمان اکتشاف برای ۲ شیء کمتر از ۵ ثانیه باشد، نتایج معتبر نخواهند بود و بنابراین آن رات از روال آزمایش حذف خواهد شد [۱۹ و ۲۰].

معیارهای مورد نظر در تست تشخیص شی جدید عبارتند از:

(e_1) : مجموع زمانی که صرف اکتشاف ۲ شیء مشابه (a) در T1 شده است که برابر است با $e_1=a_1+a_2$

(e_2) : مجموع زمان صرف شده برای اکتشاف شیء مشابه (a) و شیء جدید (b) در T2 که برابر است با $e_2=a+b$

(d_2) : معیار تمایز است و یک اندازه گیری نسبی برای بررسی تفاوت در کاوش شیء جدید و شیء آشنا است که برابر با نسبت زمان صرف شده برای کاوش شیء جدید در T2 منهای زمان صرف شده برای کاوش شیء آشنا در T2 به مجموع زمان صرف شده برای اکتشاف هر دو شیء در T2 می باشد. $d_2=(b-a)/e_2$

(R) : معیار تشخیص است و یک اندازه گیری نسبی بر اساس زمان صرف شده برای کاوش شیء جدید در T2 نسبت به مجموع زمان صرف شده برای اکتشاف هر دو شیء در T2 می باشد. $R=b/e_2$

Fa و Fb : بترتیب دفعات لمس شیء آشنا و شیء جدید در T2 می باشد.

شاخص های d2، R، Fa و Fb محاسبه و با همدیگر مقایسه می شوند تا عملکرد حافظه حیوان بررسی شود.

مقادیر مربوط به هر کدام از شاخص های بررسی شده بصورت میانگین ± SEM در نمودارهای ستونی بیان شدند. جهت مقایسه مقادیر هر کدام از شاخص ها در بین گروه های مختلف از روش آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد و در صورت وجود تفاوت با استفاده از آزمون تعقیبی Tukey میزان این تفاوت بین تمام گروه ها مشخص شد. تفاوت با $P<0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد. جهت رسم نمودارها از برنامه Graphpad Prism V.5 استفاده شد.

یافته ها

همانطور که از نمودارها مشخص است، نوزادانی که مادران آنها در دوران بارداری در مواجهه با استرس بوده اند، در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری را در شاخص های d2 ($P<0.001$) و R ($P<0.001$) در مرحله T2 نشان دادند. مقدار این شاخص ها در نوزادان گروه متحمل استرس بترتیب ۰/٦٦- و ۰/۲۷ است درحالی که این مقدار برای نوزادان گروه کنترل بترتیب ۰/۳۹ و ۰/٦٦ است.

تجویز داخل صفاقی دوزهای ۳ و یا ۵ میلیگرم بر کیلوگرم ملاتونین به رات های باردار تحت استرس، تغییر قابل ملاحظه ای را در شاخص های d2 و R نوزادان آنها در مقایسه با نوزادان گروه در معرض استرس در مرحله T2 ایجاد نکرد.

تجویز دوزهای ۱۰ و یا ۵۰ میلیگرم بر کیلوگرم ملاتونین به صورت داخل صفاقی، به رات های باردار تحت استرس، به طور قابل ملاحظه ای شاخص d2 ($P<0.001$) و همچنین R ($P<0.001$) را در نوزادان در مقایسه با نوزادان گروه در معرض استرس افزایش داد، لیکن تفاوت معنی داری را با نوزادان گروه کنترل نشان ندادند. به طوری که شاخص d2 در نوزادان مربوط به گروه دریافت کننده دوز ۱۰ و یا ۵۰ میلیگرم بر کیلوگرم ملاتونین به ترتیب برابر با ۰/٦۲ و ۰/۵۵ است که در مقایسه با شاخص d2 نوزادان گروه استرس که برابر با ۰/٦٦- است به طور معنی داری افزایش یافته است. مقدار شاخص R برای نوزادان گروه در معرض استرس و دریافت کننده دوز ۱۰ و یا ۵۰ میلیگرم بر کیلوگرم ملاتونین بترتیب برابر با ۰/۸۱ و ۰/۷٦ است که در مقایسه با این شاخص در نوزادان گروه در معرض استرس که به میزان ۰/۲۷ است، بطور قابل توجهی افزایش یافته است.

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-10-30]

[DOI: 10.52547/aums.11.4.469]

مقایسه مقدار شاخص d2 در نوزادان مادران دریافت کننده ۱۰ میلیگرم بر کیلوگرم ملاتونین همزمان با مواجهه با استرس نسبت به نوزادان گروه دریافت کننده ۵۰ میلیگرم بر کیلوگرم ملاتونین، اختلاف معنی داری را نشان نمی دهد.

تزریق اسکوپولامین با دوز ۱ میلیگرم بر کیلوگرم بصورت داخل صفاقی به رات های یک ماهه، ۳۰ دقیقه قبل از فاز T1 بطور قابل توجهی شاخص d2 (P<0.001) و R (P<0.001) را در مقایسه با نوزادان گروه کنترل کاهش داد. این مقادیر برای d2 و R در گروه دریافت کننده اسکوپولامین بترتیب برابر ۰/۵۲- و ۰/۲۲ و در نوزادان گروه کنترل بترتیب برابر ۰/۳۹ و ۰/٦٦ بود.

نوزادان گروه کنترل در فاز T2 بطور معنی داری با دفعات بیشتر، شیء جدید را نسبت به شیء آشنا اکتشاف کردند. القای استرس محدود کننده به مادران باردار موجب شد که این الگوی دفعات اکتشاف در نوزادان این مادران نسبت به گروه کنترل تغییر کند. به طوری که آنها شیء آشنا را بطور قابل توجهی بیشتر از شیء جدید اکتشاف کردند. تجویز ۳ و ۵ میلیگرم بر کیلوگرم ملاتونین به مادران باردار در معرض استرس، تغییری را در الگوی اکتشاف اشیاء توسط نوزادان آنها نسبت به نوزادان گروه استرس ایجاد نکرد، به طوری که آنها نیز شیء آشنا را بیشتر از شیء جدید اکتشاف کردند. اما تجویز دوزهای ۱۰ و ۵۰ میلیگرم بر کیلوگرم ملاتونین به مادران باردار در معرض استرس باعث معکوس شدن الگوی اکتشاف اشیاء توسط نوزادان آنها نسبت به نوزادان گروه استرس شد. بعبارتی آنها شیء جدید را بطور قابل ملاحظه ای بیشتر از شیء آشنا اکتشاف کردند که این الگو شبیه الگوی نوزادان گروه کنترل بود.

تزریق داخل صفاقی ۱ میلیگرم بر کیلوگرم اسکوپولامین به رات های یک ماهه، ۳۰ دقیقه قبل از فاز T1 باعث شد که آنها در فاز T2، شیء آشنا را بطور معنی داری بیشتر از شیء جدید اکتشاف کنند که این الگو با الگوی اکتشاف نوزادان گروه کنترل کاملا متفاوت است.

بحث

مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر دوزهای مختلف ملاتونین تجویز شده در دوران بارداری، بر عملکرد حافظه رات های نوزاد که در دوره جنینی خود تحت استرس قرار گرفته اند، انجام شده است.

حافظه رات های نوزاد، یک ماه پس از تولد با روش تشخیص افتراقی اشیاء بررسی شد. این روش یکی از روش های دقیق و حساس در سنجش حافظه حیوانات است [۲۰]. نتایج نشان می دهد که نوزادان یک ماهه رات که مادران آنها در دوران بارداری در معرض استرس محدود کننده بوده اند، در فاکتورهای تشخیص و تمایز اشیاء، کاهش قابل توجهی را نسبت به گروه کنترل خود که استرسی را متحمل نشده اند، بروز داده اند که دلیل بر آسیب به قدرت حافظه آنها است. این نتایج مبنی بر اختلال حافظه رات ها بدنبال القای استرس در راستای بسیاری از مطالعات قبلی است که اثرات تخریبی استرس را بر ساختار آناتومیکی و عملکرد فیزیولوژیکی مغز بویژه در پروسه هایی نظیر حافظه و یادگیری نشان می دهند. Boersma و همکارانش در سال ۲۰۱٤ نشان دادند که استرس در دوران بارداری باعث آسیب به حافظه رات های نوزاد و اختلالات رفتاری آنها می شود. آنها تغییر در میزان هورمون های گلوکوکورتیکوئیدی، تغییر در میزان فعالیت سیستم سمپاتیک، افزایش در میزان و عملکرد سیتوکاین ها در مادر و بالتبع آن در جنین را از علل مهم این آسیب ها بیان کردند. همچنین نشان دادند که کاهش رشد و تراکم نورونی و کاهش پلاستی سیتی و نوروژنزیز مراکزی نظیر آمیگدال، کورتکس و هیپوکامپ میتواند از علل دیگر تخریب پروسه های فیزیولوژیک مغزی، نظیر حافظه باشد [۲۱]. از طرفی Jafari و همکارانش در یک مطالعه تجربی نشان دادند که استرس صوتی در دوران بارداری، شدت افت فعالیت های شناختی را تشدید می کند و همچنین شروع تجمع آمیلوئید بتا را در موش های آلزایمری تسریع می نماید. آنها نیز افزایش میزان هورمون های گلوکوکورتیکوئیدی و اختلال در محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال را از مهمترین علل این وقایع می دانستند [۲۲]. بنابراین از نتایج مطالعات متعدد در این زمینه چنین برداشت می شود که تحت شرایط استرس زا، سطح هورمون گلوکوکورتیکوئید در خون مادر، بشدت افزایش می یابد و بدنبال افزایش بیش از حد سطح این هورمون در خون مادر و کمبود آنزیم ۱۱- هیدروکسی استروئید دهیدروژناز در جنین که یک مهار کننده هومون گلوکوکورتیکوئید است، دسترسی این هورمون به جنین افزایش می یابد [۵ و ۲۳]. یکی از مهم ترین اهداف این هورمون، هیپوکمپ مغز می باشد که نقش مهمی در حافظه و یادگیری ایفا می کند. این ناحیه دارای تراکم بالایی از گیرنده های گلوکوکورتیکوئیدی می باشد و غلظت بالای گلوکوکورتیکوئید،

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-10-30]

[DOI: 10.52547/aums.11.4.469]

باعث افزایش تراکم گیرنده ان-متیل-دی-آسپارتات می شود. در نتیجه ورود کلسیم به داخل سلول از طریق این گیرنده، افزایش یافته و مقادیر بالای کلسیم در هیپوکمپ، باعث فعال شدن مکانیسم های مرگ برنامه ریزی شده سلولی می شود [۱۲]. افزایش گلوکوکورتیکوئیدها مستقیما و یا با افزایش کلسیم داخل سلولی می تواند واکنش های استرس اکسیداتیو را در سلول های مغزی افزایش دهد و نهایتا منجر به نورودژنراسیون و کاهش زواید و سیناپس های نورونی بویژه در هیپوکامپ شود [۲۴ و ۲۵].

نتایج مطالعه حاضر نشان می دهد که تجویز ملاتونین در دوران بارداری همزمان با دورانی که مادران باردار در معرض استرس محدود کننده قرار گرفتند، می تواند اثر استرس بر روی فاکتورهای تشخیص و تمایز در تست تشخیص اشیاء برای رات های نوزاد یک ماهه را تعدیل نماید. بعبارتی مدت زمان صرف شده جهت تشخیص و تمایز شیء جدید در گروه های دریافت کننده ملاتونین افزایش یافته است. پیامد این اثر، بهبود عملکرد شناختی در رات های یک ماهه ای است که در دوران جنینی در معرض استرس محدود کننده حرکتی بوده اند. اگر چه این تغییرات در دوزهای پایین ملاتونین بکار رفته در این مطالعه، یعنی دوزهای ۳ و ۵ میلیگرم بر کیلوگرم چندان قابل توجه نبوده است، ولی دوزهای بالاتر ملاتونین در مادران باردار یعنی دوزهای ۱۰ و ۵۰ میلیگرم بر کیلوگرم باعث مقابله با آسیب های ناشی از استرس بر روی حافظه در نوزادان یک ماهه شده است. اگر چه بر خلاف دوزهای پایین ملاتونین، مقادیر بالای آن، اثرات مفید قابل توجهی را در مقابله با استرس از خود نشان می دهند اما این اثر بین دوزهای ۱۰ و ۵۰ میلیگرم ملاتونین تفاوت قابل توجهی را نشان نمی دهد. این اتفاق بیان می کند که در مطالعه حاضر اثرات مفید ملاتونین بر حافظه اثری وابسته به دوز نیست و اگرچه در دوزهای پایین این اثر دیده نمی شود ولی در دوزهای بالا نیز به اشباع می رسد. عدم دستیابی کافی ملاتونین به جنین و پس از آن به مغز جنین و یا مقادیر ناکافی آن جهت مقابله با مکانیسم های تخریبی استرس می تواند از علل احتمالی عدم اثربخشی ملاتونین در دوزهای پایین باشد. ظرفیت محدود مکانیسم های بکار گرفته شده توسط ملاتونین جهت مقابله با استرس نیز می تواند علت اشباع شدن اثرات مفید ملاتونین در دوزهای بالا در نظر گرفته شود.

اما اثرات مقابله ای ملاتونین در برابر استرس که در این مطالعه در دوزهای بالای ملاتونین اتفاق افتاد، تایید کننده نتایج مطالعات متعددی است که اثرات محافظتی و درمانی ملاتونین را در بسیاری از آسیب های ناشی از انواع استرس نشان داده اند. Rajput و همکارانش طی مطالعه ای در سال ۲۰۱۷ نشان دادند که ملاتونین در دوز ۲۰ میلیگرم بر کیلوگرم میتواند آسیب شناختی و سمیت نورون های هیپوکامپ ناشی از استرس محدود کننده حرکتی را که با مصرف الکل همراه شده است از طریق مقابله با افزایش استرس اکسیداتیو و فاکتورهای التهابی معکوس نماید [۲۶]. در سال ۲۰۱۷ در مطالعه ای دیگر Guo و همکاران نشان دادند که دوز ۱۰ میلیگرم بر کیلوگرم ملاتونین در موش سوری میتواند استرس اکسیداتیو و آپوپتوز ناشی از استرس محدود کننده حرکتی را در سلول های بیضه کاهش دهد [۲۷].

امروزه ملاتونین به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی معرفی شده است. از نتایج مطالعه حاضر و مستندات علمی دیگر بدین گونه برداشت می شود که ملاتونین می تواند اختلالات حافظه را بازیابی کند. اثرات قابل توجهی از ملاتونین بر بهبود حافظه با تعدیل محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنال و همچنین حذف رادیکال های آزاد در هیپوکمپ وجود دارد. همانطور که در مقدمه ذکر شد ملاتونین هورمونی است که می تواند از جفت عبور کند و وارد جنین شود و به دلیل خاصیت چربی دوستی به سادگی از سد خونی-مغزی عبور کرده و به دلیل داشتن ساختمان غنی از الکترون، قابلیت جمع آوری و حذف رادیکال های آزاد مغز را داشته باشد [۱۸].

براساس مطالعات پیشین، ملاتونین سطح سایتوکاین های پیش التهابی مانند TNF-α و اینترلوکین۱-بتا را کاهش می دهد و با این روند از ادامه یافتن واکنش های التهابی درون مغز جنین بدنبال استرس مادر و آسیب های بیشتر نواحی مختلف مغز خصوصا هیپوکمپ توسط رادیکال های آزاد، جلوگیری می کند [۲۸]. از سوی دیگر ملاتونین باعث افزایش سطح آنتی اکسیدان هایی منجمله سوپراکساید دسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون می شود که به طور طبیعی در بدن رادیکال های آزاد را جمع آوری می کنند [۲۹]. بر اساس مطالعات George Anderson و همکارانش در سال ۲۰۱۲، ملاتونین بر روی هورمون گلوکوکورتیکوئید اثر کرده و باعث مهار انتقال هسته ای رسپتور گلوکوکورتیکوئید می شود، در نتیجه از عوارض مربوط به افزایش گلوکوکورتیکوئید در شرایط استرس زا، بر روی مغز

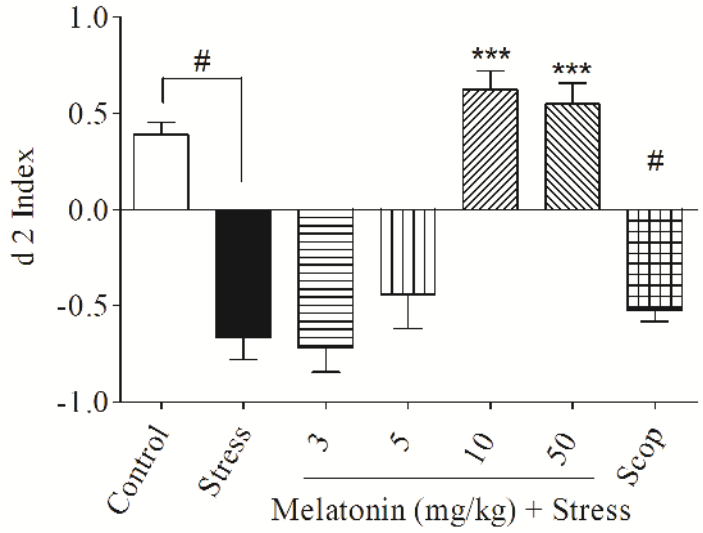
[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-10-30]

[DOI: 10.52547/aums.11.4.469]

خصوصا هیپوکمپ جلوگیری میکند [۳۰].

Bertaina-Anglade و همکارانش در سال ۲۰۱۱ نشان دادند که تجویز ملاتونین در موش سوری میتواند اختلال حافظه ناشی از اسکوپولامین را معکوس نماید. آنها همچنین گزارش کردند که آگوملاتین که یک آگونیست گیرنده های ملاتونین است با بکارگیری مکانیسم های متنوع از جمله تعدیل واسطه های اکسایتوتوکسیک نظیر گلوتامات، افزایش فاکتورهای نوروتروفیک میتواند اثرات مفیدی را در بهبود حافظه در موش های افسرده نشان دهد [۳۱].

ملاتونین دارای دو گیرنده Ml1 با میل ترکیبی بالا و Ml2 با میل ترکیبی پایین می باشد که گیرنده های متصل به پروتئین G می باشند. به نظر می رسد که تراکم گیرنده های Ml2 در نواحی مرتبط با حافظه نظیر هیپوکامپ بیشتر باشد و این دسته از گیرنده های ملاتونین نقش مهمتری در شکل گیری و تقویت حافظه داشته باشند. این واقعیت که گیرنده Ml2 گیرنده ای با میل ترکیبی پایین برای ملاتونین است میتواند دلیل اثربخشی ملاتونین در دوزهای بالا در این مطالعه را توجیه نماید و بدلیل اشباع شدن گیرنده، تفاوت اثری در دوز ۵۰ میلیگرم بر کیلوگرم نسبت به دوز ۱۰ میلیگرم بر کیلوگرم مشاهده نشد. بهر حال جهت تعیین علل اثرات مشاهده شده از ملاتونین در این مطالعه، بررسی های بیوشیمیایی و ملکولار عمیق هم در مغز و خون مادر و هم نوزاد لازم است که میتواند نقشه راهی برای مطالعات آینده باشد.

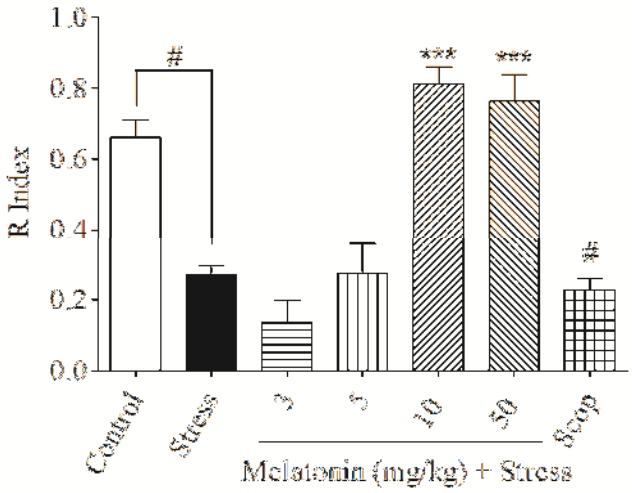


نمودار ۱: اثر تجویز همزمان دوزهای ۳، ۵، ۱۰ و ۵۰ میلیگرم بر کیلوگرم ملاتونین با استرس محدود کننده حرکتی بر روی شاخص d2 در تست حافظه نوزادان رات. # اختلاف معنی دار بین گروه مشخص شده و گروه کنترل با P<0.001. *** اختلاف معنی دار بین گروه مشخص شده و گروه استرس محدود کننده با P<0.001.

Scop: اسکوپولامین، Stress: استرس محدود کننده حرکتی، d2: معیار تمایز

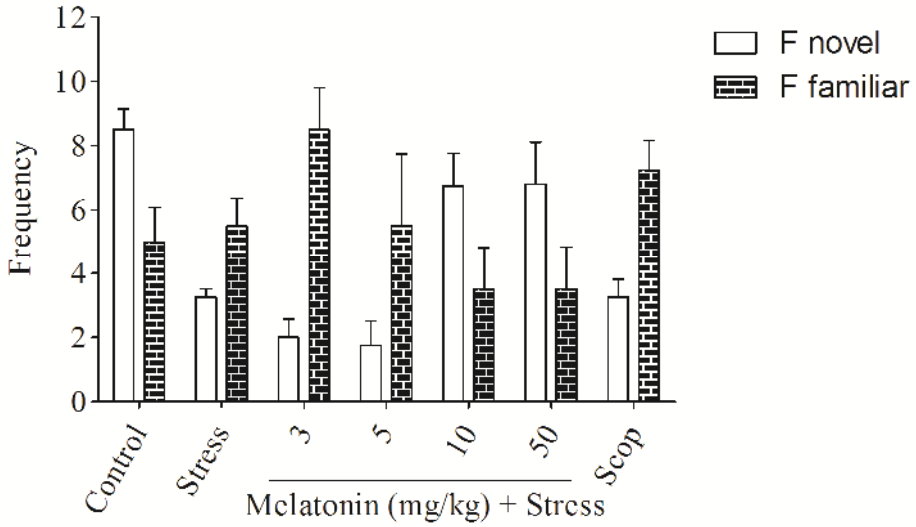
[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-10-30]

[DOI: 10.52547/aums.11.4.469]



نمودار ۲: اثر تجویز دوزهای دوزهای ۳، ۵، ۱۰ و ۵۰ میلیگرم بر کیلوگرم ملاتونین با استرس محدود کننده حرکتی بر روی شاخص R در تست حافظه نوزادان رات. # اختلاف معنی دار بین گروه مشخص شده و گروه کنترل با P<0.001. *** اختلاف معنی دار بین گروه مشخص شده و گروه استرس محدود کننده با P<0.001.

Scop: اسکوپولامین، Stress: استرس محدود کننده حرکتی، R: معیار تشخیص



نمودار ۳: اثر تجویز دوزهای دوزهای ۳، ۵، ۱۰ و ۵۰ میلیگرم بر کیلوگرم ملاتونین با استرس محدود کننده حرکتی بر روی تعداد دفعات اکتشاف شیء در فاز T2

Scop: اسکوپولامین، Stress: استرس محدود کننده حرکتی، F novel: تعداد دفعات اکتشاف شیء جدید، F familiar: تعداد دفعات اکتشاف شیء اشنا

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-10-30]

[DOI: 10.52547/aums.11.4.469]

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان می دهند که تجویز ملاتونین در دوزهای ۱۰ میلیگرم بر کیلوگرم و بیشتر در دوران بارداری میتواند از آسیب حافظه نوزادان یک ماهه رات که مادران آنها در دوران بارداری در معرض استرس محدود کننده بوده اند، جلوگیری کند. در دوزهای پایین تر این اثرات مشاهده نشد و در دوز بالاتر از ۱۰ میلیگرم بر کیلوگرم افزایشی در این اثر حاصل نشد. شناسایی مکانیسم های درگیر در اثرات مفید ملاتونین نیاز به مطالعات سلولی ملکولی بیشتر دارد.

سپاسگزاری

نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشکده داروسازی و دانشگاه علوم پزشکی اصفهان بخاطر همکاری ها و حمایت مالی جهت انجام این تحقیق در قالب پایان نامه دکترای داروسازی با شماره ۳۹۶۷۷۱ تقدیر و تشکر می نمایند. همچنین از سرکار خانم مرادی و جناب آقای شریفی بخاطر کمک و همکاری در آزمایشگاه فارماکولوژی و لانه حیوانات دانشکده داروسازی اصفهان سپاسگزاری می شود.

References

1. Evans J, Heron J, Francomb H, Oke S, Golding J. Cohort study of depressed mood during pregnancy and after childbirth. BMJ 2001(7307); 323: 257–60.
2. Heron J, O'Connor TG, Evans J, Golding J, Glover V. The course of anxiety and depression through pregnancy and the postpartum in a community sample. J Affect Disord. 2004; 80(1): 65–73.
3. Akbarnejad Z, Haghir H, Moghimi A, Sazegarnia A, Motejedded F, Fazel AR. Synchronous Effects of Light and Noise Prenatal Stress on Birth Weight among Rat Neonates. Iran J Obstet Gynecol Infertil 2010; 13(3): 31-36 .[In Persian].
4. Haji Khani NA, Ozgoli G, Taghi Pour E, Hamzeh Gardeshi Z. The relationship between mental stress and hypertensive disorders during pregnancy: A review article. Iran J Obstet Gynecol Infertil 2017; 20(7): 61-70. [In Persian].
5. Charil A, Laplante DP, Vaillancourt C, King S. Prenatal stress and brain development. Brain Res Rev 2010; 65(1): 56-79.
6. Wolf OT.HPA axis and memory. Best Pract Clin Endocrinol Metab 2003; 17(2): 287-99.
7. Conrad CD. A critical review of chronic stress effects on spatial learning and memory. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2010; 34(5): 742-55.
8. Weinstock M. The long-term behavioural consequences of prenatal stress. Neurosci Biobehav Rev 2008; 32(6): 1073-86.
9. Ter Heegde F, De Rijk RH, Vinkers CH. The brain mineralocorticoid receptor and stressresilience. Psychoneuroendocrinology 2015; 52: 92-110.
10. Pilipovic K, Zupan Z, Dangubic B, Mrsic-Pelcic J, Zupan G. Oxidative stress parameters in different brain structures following lateral fluid percussion injury in the rat. Neurochem Res 2011; 36(5): 913-21.
11. Wang C, Wu HM, Jing XR, Meng Q, Liu B, Zhang H, et al. Oxidative Parameters in the Rat Brain of Chronic Mild Stress Model for Depression: Relation to Anhedonia-Like Responses. J Membr Biol 2012; 245(11): 675-81.
12. McEwen BS, Bowles NP, Gray JD, Hill MN, Hunter RG, Karatsoreos IN, et al. Mechanisms of stress in the brain. Nat Neurosci 2015; 18(10): 1353-63.
13. 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.
14. Cao XJ, Wang M, Chen WH, Zhu DM, She JQ, Ruan DY. Effects of chronic administration of melatonin on spatial learning ability and long-term potentiation in leadexposed and control rats. Biomed Environ Sci 2009; 22(1):70-5.
15. Chan KH, Wong YH. A molecular and chemical perspective in defining melatonin receptor subtype selectivity. Int J Mol Sci 2013; 14(9):18385-406.
16. Voiculescu SE, Zygouropoulos N, Zahiu CD, Zagrean AM. Role of melatonin in embryo fetal development. J Med Life 2014; 7(4): 488–92.
17. Okatani Y, Okamoto K, Hayashi K, Wakatsuki A, Tamura S, Sagara Y. Maternal-fetal transfer of melatonin in pregnant women near term. J Pineal Res 1998; 25(3): 129–134.
18. Allegra M, Reiter RJ, Tan DX, Gentile C, Tesoriere L, Livrea MA. The chemistry of melatonin's interaction with reactive species. J pineal Res 2003; 34(1):1-10.
19. Rutten K, Lieben C, Smits L, Blokland A. The PDE4 inhibitor rolipram reverse object memory impairment induced by acute tryptophan depletion in the rat. Psychopharmacology (Berl) 2007; 192(2):275-82.

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-10-30]

[DOI: 10.52547/aums.11.4.469]

20. Antunes M, Biala G. The novel object recognition memory: neurobiology, test procedure, and its modifications. Cogn Process 2012; 13(2): 93-110.

21. Boersma GJ, Tamashiro KL. Individual differences in the effects of prenatal stress exposure in rodents. Neurobiol Stress 2015; 1: 100-8.

22. Jafari Z, Mehla J, Kolb BE, Mohajerani MH. Prenatal noise stress impairs HPA axis and cognitive performance in mice. Sci Rep 2017; 7(1):10560.

23. Seckl JR, Holmes MC. Mechanisms of disease: glucocorticoids, their placental metabolism and fetal 'programming' of adult pathophysiology. Nat Clin Pract Endocrinol Metab 2007; 3(6): 479-88.

24. Sato H, Takahashi T, Sumitani K, Takatsu H, Urano S. generates ROS to induce oxidative injury in the hippocampus, leading to impairment of cognitive function of rats. J Clin Biochem Nutr 2010; 47(3): 224-32.

25. Pham K, Nacher J, Hof PR, McEwen BS. Repeated restraint stress suppresses neurogenesis and induces biphasic PSA-NCAM expression in the adult rat dentate gyrus. Eur J Neurosci 2003; 17(4): 879-86.

26. Rajput P, Jangra A, Kwatra M, Mishra A, Lahkar M. Alcohol aggravates stress-induced cognitive deficits and hippocampal neurotoxicity: Protective effect of melatonin. Biomed Pharmacother 2017; 91: 457-466.

27. Guo Y, Sun J, Li T, Zhang Q, Bu S, Wang Q, et al. Melatonin ameliorates restraint stress-induced oxidative stress and apoptosis in testicular cells via NF-κB/iNOS and Nrf2/ HO-1 signaling pathway. Sci Rep 2017; 7(1): 9599.

28. Czechowska G, Celinski K, Korolczuk A, Wojcicka G, Dudka J, Bojarska A, et al. Protective effects of melatonin against thioacetamide-induced liver fibrosis in rats. J Physiol Pharmacol 2015; 66(4): 567-79.

29. Rodrigues C, Mayo JC, Sainz RM, Antolin I, Herrera F,Martin V, et al. Regulation of antioxidant enzyme: a significant role of melatonin. J Pineal Res 2004, 36: 1-9.

30. Anderson G, Maes M. Melatonin: an overlooked factor in schizophrenia and in the inhibition of anti-psychotic side effects. Metab Brain Dis 2012; 27(2): 113-9.

31. Bertaina-Anglade V, Drieu-La-Rochelle C, Mocaer E, Seguin L. Memory facilitating effects of agomelatine in the novel object recognition memory paradigm in the rat. Pharmacol Biochem Behav 2011; 98(4): 511-7.

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-10-30]

[DOI: 10.52547/aums.11.4.469]

AUMJ Alborz University of Medical Sciences Journal

Alborz University of Medical Sciences Journal, October 2022, Vol. 11, No. 4: 469-479 *Original Article*

Mina Kiaroosta[1], Ali Hosseini-Sharifabad[2*], Mohammad Rabbani[3]

[1]Pharm.D, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, I.R.IRAN

[2]Associate Professor, Department of Pharmacology and Toxicology, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, I.R.IRAN

[3]Prefessor, Department of Pharmacology and Toxicology, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, I.R.IRAN

Protective Effects of Melatonin on Prenatal Restraint Stress-Induced Memory Impairment in Offspring Rats

Received: 22 Mar 2021 ; Accepted: 24 May 2022

Abstract

Background and purpose: Pregnant women experience different type of stresses which affect the fetus brain physiological processes like memory. Therefore, it is attractive to find the protective agents that are safe in the pregnancy and neutralize the stress induced manifestations. The aim of current study was to investigate the protective effects of melatonin on memory impairment induced by prenatal restraint stress in offspring rats.

Materials and methods: In this experimental study, pregnant rats were randomly assigned to control, restraint stress group and four melatonin treated groups that received 3, 5, 10, and 50 mg/kg of melatonin concomitant with restraint stress. Restraint stress daily induced from 10th to 21st day of pregnancy. Melatonin was daily injected intraperitoneally before the restraint stress. One month after the birth, the memory of offspring was evaluated by measurement of "Discrimination" and "Recognition" indices using Object Recognition Task.

Results: From the data, administration of 3 or 5 mg/kg melatonin did not show significant differences in Discrimination and Recognition indices compared to restraint stress group while injection of 10 or 50 mg/kg of melatonin significantly increased the above indices ($P < 0.001$). There is no significant difference in indices values for 10 or 50 mg/kg of melatonin.

Conclusion: The findings showed that prenatal restraint stress induced memory impairment in one month offspring rats. Administration of melatonin in high doses actively prevent restraint stress induced memory impairment.

Keywords*:* Melatonin, Restraint Stress, Memory, Offspring Rats, Object Recognition Task

[*] **Corresponding Author:**
Associated Professor, Department of Pharmacology and Toxicology, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, I.R.IRAN

Tel: 09132514473
Email: hosseini_a@pharm.mui.ac.ir

[Downloaded from aums.abzums.ac.ir on 2026-10-30]

[DOI: 10.52547/aums.11.4.469]