

تأثیر تزریق انسولین درون صفاقی در دوران شیردهی مادران بر اکتساب و حافظه فضایی موش‌های صحرائی بالغ

مرتضی طاهری^۱

۱. استادیار دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)*

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۸/۱۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۷/۱۲

چکیده

هدف از این پژوهش، بررسی تأثیر تزریق انسولین درون صفاقی در دوران شیردهی مادران بر اکتساب و حافظه فضایی موش‌های صحرائی مادر می‌باشد که به روش آزمایشگاهی انجام گردیده است. جامعه آماری این پژوهش را رت‌های صحرائی باردار از نژاد آلبینو - ویستار تشکیل دادند. بدین‌شکل که با بررسی و مشاهده پلاک واژنی، رت‌های باردار انتخاب شدند و آن روز به‌عنوان روز صفر بارداری تعیین گردید. پس از ۲۱ روز (دوره بارداری)، روز زایش به‌عنوان روز صفر در نظر گرفته شد و تزریق انسولین از روز اول تا روز هفتم شیردهی به مادران در زمان معین انجام گردید. پس از دوران شیردهی (۲۲ روز پس از تولد)، نوزادان از مادر جدا شدند. سپس در روز ۵۶، رت‌ها برای بررسی و سنجش اکتساب و حافظه فضایی به دستگاه ماز آبی انتقال داده شدند. به‌منظور تحلیل داده‌ها از تحلیل واریانس یک‌طرفه استفاده شد و آزمون تعقیبی توکی نیز برای تعیین اختلاف میان گروه‌ها به‌کار رفت. نتایج پژوهش نشان می‌دهد که گروه انسولین در هر دو آزمون اکتساب و حافظه فضایی، در پارامترهای زمان و مسافت از عملکرد بهتری در مقایسه با دو گروه سالیین و کنترل برخوردار می‌باشد ($P < 0.05$). همچنین، مشخص شد که افزایش انسولین در دوران شیردهی، احتمالاً کیفیت بهتری از شیر مادر را به‌همراه دارد و این امر می‌تواند منجر به رشد و تکامل بهتر در سیستم عصبی گردد. بهبود اکتساب و یادداری نیز از تبعات احتمالی این اثر می‌باشد. در نتیجه، می‌توان اظهار کرد که انسولین می‌تواند بهبود یادگیری و حافظه فضایی را در انتقال نسل به‌همراه داشته باشد.

واژگان کلیدی: انسولین، اکتساب، حافظه فضایی

مقدمه

عوامل زیادی در محیط نوزاد وجود دارد که می‌تواند بر فرایندهای رشد و یادگیری وی اثر بگذارد. شاید هورمون‌ها از مهم‌ترین عوامل در این زمینه باشند که به شکل مستقیم و غیرمستقیم بر رشد و اعمال کلیه سیستم‌های بدن اثر می‌گذارند. انسولین از جمله هورمون‌هایی است که دارای اثرات بسیاری در بدن انسان می‌باشد. یکی از نقش‌های عمده آن، تأثیر در رشد و تکامل سیستم‌های بدن از جمله سیستم عصبی مرکزی و پیرامونی است؛ لذا، شناخت نقش این هورمون در بدن و آثار متعدد آن در عملکرد دستگاه‌های مختلف بدن، به‌ویژه سیستم عصبی می‌تواند جایگاه ویژه این هورمون در بدن را بیشتر روشن کند. مغز به‌عنوان فرمانده کل در تمام فعالیت‌های بدن نقش اصلی و حیاتی دارد و تغییرات آن می‌تواند سبب بروز تغییرات عمده‌ای در عملکرد سیستم‌های مختلف بدن شود. برای مدت‌ها مغز به‌عنوان اندامی تصور می‌شد که نسبت به انسولین حساس نیست؛ لذا، نقش انسولین در مغز کمتر مورد توجه قرار می‌گرفت و بیشتر بر نقش محیطی آن توجه و تمرکز می‌شد. براساس شواهد پژوهشی، تراکم گیرنده‌های انسولینی در مناطق مختلف مغز فراوان است (۱،۲). یکی از نواحی مهم درگیر در یادگیری، حافظه فضایی و نیز حافظه حرکتی، ناحیه هیپوکامپ است. وجود گیرنده‌های انسولین در هیپوکامپ و کورتکس مغز حاکی از نقش آن در فرایندهای شناختی نظیر حافظه و یادگیری می‌باشد (۳).

بررسی پژوهش‌ها و مطالعات زیادی که در رابطه با عوامل تأثیرگذار بر یادگیری (شناختی و حرکتی) صورت گرفته است نشان می‌دهد که غالب این پژوهش‌ها، مسائل بنیادین و ریشه‌ای یادگیری که دربرگیرنده سیستم عصبی مرکزی و غدد درون‌ریز می‌باشند را نادیده گرفته‌اند. علاوه بر این، پژوهش‌های انجام‌شده در مورد نقش انسولین در حافظه و یادگیری، بیشتر به جنبه‌های بالینی موضوع پرداخته‌اند و غالباً بیماران مبتلا به آلزایمر و دیابت و موارد مشابه را بررسی کرده‌اند. اخیراً، اثر انسولین بر حافظه و یادگیری افراد بالغ سالم مورد مطالعه قرار گرفته است. از آن‌جاکه سیستم اعصاب در دوران شیرخوارگی از رشد چشمگیری برخوردار است؛ لذا، دوره شیرخوارگی یکی از بهترین دوران‌ها برای بررسی نقش انسولین در حافظه و یادگیری می‌باشد. بیان ژن گیرنده انسولین در بسیاری از نواحی مغزی از جمله پیاز بویائی، هیپوتالاس، قشر مغز و هیپوکامپ به اثبات رسیده است (۴). گیرنده‌های انسولین موجود در مغز، ظاهراً در مقایسه با انواع محیطی خود ویژگی‌های متفاوتی را نشان می‌دهند؛ به‌عنوان مثال، مواجهه گیرنده‌های محیطی با غلظت‌های بالای انسولین باعث تنظیم کاهشی آن‌ها می‌گردد؛ در صورتی که چنین اثری در مورد گیرنده‌های مرکزی انسولین مشاهده نمی‌شود (۵). علاوه بر این، تشکیلات هیپوکامپ در فرایند تشکیل و تثبیت حافظه فضایی نقش دارند. ثابت شده است که سلول‌های عصبی ناحیه CA1 هیپوکامپ نسبت به انواع محرک‌های

فیزیولوژیک از قبیل یادگیری (۶) و محرک‌های پاتولوژیک از قبیل ایسکمی، هایپوکسی (۷) و یا هایپرگلیسمی (۸)، حساس‌ترین سلول‌های مغزی هستند. همچنین، نقش تسهیلی هیپوکمپ در شکل‌گیری حافظه فضایی جوندگان نیز به اثبات رسیده است (۹). مشخص شده است که یادگیری فضایی موجب القای تغییرات بیوشیمیایی در بیان ژن گیرنده انسولین می‌شود (۸).

به نظر می‌رسد که انسولین و گیرنده آن در مغز، غالباً یک عملکرد تنظیم‌کننده نورونی داشته باشند؛ به‌عنوان مثال، نقش تنظیمی انسولین در فعالیت‌های سیناپسی - هم به‌صورت پیش‌سیناپسی و هم به‌صورت پس‌سیناپسی - به اثبات رسیده است (۱۰). علاوه بر این، انسولین باعث افزایش فعالیت گیرنده‌های آلفا ۱-آدرنرژیک در سلول‌های هیپوکمپ رت می‌شود (۱۱). همچنین، در گزارشی آمده است که تزریق داخلی بطنی انسولین در رت موجب افزایش چشمگیری در غلظت استیل کولین و سروتونین پایانه‌های پیش‌سیناپسی می‌شود؛ در صورتی که غلظت دوپامین را کاهش می‌دهد. انسولین در بخش پس‌سیناپسی بر روی گیرنده‌های $NMDA^1$ گلوتامات اثر می‌گذارد و بدین ترتیب، باعث القای تقویت طولانی‌مدت در هیپوکمپ و در نهایت، یادداری بهتر می‌شود (۱۱). اخیراً، احتمال وجود ارتباط بین اختلال عملکرد انسولین و بیماری آلزایمر توجه بسیاری از پژوهشگران را به‌خود جلب کرده است. سطح انسولین پلاسما و مایع مغزی - نخاعی در این بیماری غیرطبیعی است؛ به‌گونه‌ای که بیماران مبتلا به آلزایمر، دارای میزان پایین‌تری از انسولین در مایع مغزی - نخاعی نسبت به داوطلبان طبیعی می‌باشند. همچنین، تعداد و عملکرد گیرنده‌های مغزی انسولین در افراد مبتلا به آلزایمر تغییر یافته است. حساسیت سیستمیک نسبت به انسولین نیز در این بیماری تغییر یافته و با عملکرد شناختی بیماران مبتلا ارتباط مستقیمی دارد (۱۲).

در بیماری آلزایمر، فعالیت و مقدار غیرطبیعی انسولین و گیرنده‌های آن دیده می‌شود؛ درحالی‌که استفاده از انسولین به‌طور معناداری عملکرد شناختی این بیماران را بهبود می‌بخشد (۱۳). گزارش شده است زمانی که بیماران مبتلا به آلزایمر در شرایط هیپر انسولینی قرار می‌گیرند، عملکرد حافظه آن‌ها بهبود می‌یابد (۱۴). همچنین، بیماران مبتلا به دیابت نوع دو نیز دچار ضعف شناختی توأم با افزایش مقاومت به انسولین می‌باشند. در دیابت نوع دو، یادگیری و حافظه کلامی کاهش می‌یابد (۱۵). البته، شایان ذکر است گزارش‌هایی مبنی بر این که تزریق محیطی انسولین موجب اختلال حافظه می‌گردد وجود دارد؛ به‌عنوان مثال، در مطالعه‌ای اثر انسولین و گلوکز بر یادگیری اجتنابی رت‌های جوان مورد بررسی قرار گرفت و نشان داده شد که گلوکز موجب تسهیل و انسولین موجب اختلال حافظه می‌گردد (۱۶). در پژوهشی دیگر عنوان شد که تزریق درون صفاقی انسولین بدون تجویز هم‌زمان گلوکز موجب اختلال در ذخیره‌سازی حافظه در موش سوری می‌گردد (۱۷).

همچنین، مطالعاتی وجود دارند که نشان می‌دهند انسولین تجویز شده به اعصاب مرکزی، حافظه را تسهیل می‌کند (۱۸) و هیپرگلیسمی و هیپرانسولینمی موجب بهبود حافظه بیماران مبتلا به آلزایمر می‌گردد (۱۹). احتمالاً، دوزهای متفاوت انسولین در این مطالعات سبب بروز اثرات متضاد گردیده است. موسوی و همکاران در پژوهشی با عنوان "اثر تزریق درون هیپوکمپی انسولین بر یادگیری و حافظه فضایی"، به بررسی اثر تزریق انسولین در ناحیه CA1 هیپوکمپ رت بر عملکرد ماز آبی پرداختند. نتایج نشان داد که انسولین یک اثر وابسته به دوز دارد؛ به گونه‌ای که دوز پایین انسولین دارای اثر تخریبی است، دوز متوسط بدون تأثیر می‌باشد و دوز بالای آن اثر تقویتی دارد. این نتایج بیان می‌کند که انسولین ممکن است اثری وابسته به دوز بر یادگیری و حافظه فضایی داشته باشد (۲۰).

همچنین، حاج‌علی و همکاران در مطالعه‌ای با عنوان "تزریق انسولین به درون بطن مغز^۱ (ICV)، یادگیری و حافظه فضایی را در رت‌های نر و بیستار بهبود می‌بخشد"، به تعیین این موضوع پرداختند که آیا تزریق انسولین به صورت داخل بطنی، عملکرد ماز آبی رت‌ها را تقویت می‌کند یا خیر؟ نتایج پژوهش نشان داد تزریق انسولین سبب بروز اثر تقویتی وابسته به دوز بر حافظه فضایی رت‌ها می‌شود. قابل ذکر است که دوزهای پایین انسولین اثر معناداری بر عملکرد رت‌ها در ماز آبی نداشت؛ در حالی که دوزهای بالاتر به طور معناداری عملکرد موش‌ها را بهبود بخشید. این نتایج پیشنهاد می‌کند که تزریق درون بطنی انسولین ممکن است منجر به تقویت عملکرد حافظه در رت‌ها به صورت وابسته به دوز شود (۲۱).

علاوه بر این، ماری و هویر^۲ در پژوهشی با عنوان "اثرات تغییرات متابولیسم مغزی و محیطی گلوکز بر فعالیت جابه‌جایی، یادگیری و حافظه در رت‌های نر بالغ"، اثرات محیطی و مرکزی تغییرات متابولیسم گلوکز را بررسی کردند. نتایج نشان داد که تزریق زیرصفاقی^۳ (IP) استرپتوزوسین، فعالیت جابه‌جایی را کاهش می‌دهد و تأخیر در طول مرحله اول آزمون، باعث افزایش اجتناب غیرفعال می‌شود. علاوه بر این، هیچ تأثیری ناشی از افزایش سطح گلوکز خون شریانی بر نگهداری یادگیری اجتناب غیرفعال در ۲۴ و ۱۴۴ ساعت پس از تمرین مشاهده نشد (۲۲). کمال و همکاران (۱۹۹۸) نیز در پژوهشی با عنوان "یادگیری ماز آبی و انعطاف سیناپتیکی هیپوکمپی در رت‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوسین"، به بررسی این موضوع پرداختند که آیا تزریق انسولین می‌تواند نواقص مربوط به یادگیری در موش‌های دیابتی شده توسط استرپتوزوسین را پیشگیری یا معکوس

1. Intra Cerebra Ventricular

2. Mary & Hoyer

3. Intra Protaneal

کند؟ نتایج نشان داد که تزریق انسولین نمی‌تواند نواقص ایجاد شده در یادگیری ماز آبی را معکوس کند، اما می‌تواند جلوی پیشرفت آن‌ها را بگیرد (۲۳). به دلیل رشد سریع و فزاینده سیستم‌های مختلف بدن، دوره شیرخوارگی در انسان از اهمیت به‌سزایی برخوردار است؛ به‌گونه‌ای که هرگونه تغییر محیطی می‌تواند اثرات عمده و پایداری بر رشد سیستم فیزیولوژیکی، عصبی و عضلانی نوزاد داشته باشد. همان‌گونه که ذکر شد، تاکنون پژوهشی به بررسی تأثیر انسولین در دوران شیرخوارگی بر حافظه فضایی و حرکتی نپرداخته است. به‌نظر می‌رسد با توجه به اهمیت این دوره در سازماندهی ساختاری سیستم عصبی به‌ویژه سیستم مرکزی اعصاب، تزریق انسولین در این دوره‌ها اثرات عمده‌ای بر تشکیلات اعصاب مرکزی و در نتیجه، بر فرایندهای شناختی نظیر حافظه و یادگیری داشته باشد. گرچه انسولین از طریق شیر مادر به نوزاد شیرخوار منتقل نمی‌شود، اما به‌نظر می‌رسد انسولین تزریق شده به مادر می‌تواند سبب تغییر میزان قندخون مادر گردد و بدین‌صورت از طریق شیر به نوزاد منتقل شود و باعث بروز تغییراتی در ویژگی‌های رشدی نوزاد گردد (۲۴). با توجه به موارد فوق و این که گزارشی مبنی بر تزریق درون-صفاقی انسولین در دوران شیردهی به مادر و اثر آن بر یادگیری، حافظه و عملکرد حرکتی فرزندان آن‌ها و نیز آثار فعالیت بدنی این فرزندان بر متغیرهای فوق وجود ندارد، این پرسش مطرح می‌شود که آیا انسولین تزریق شده در دوران شیردهی می‌تواند سبب تغییر اکتساب و حافظه فضایی فرزندان شود؟

روش پژوهش

جامعه آماری این پژوهش را موش‌های صحرایی نژاد آلبینو - ویستار که از بخش پرورش حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور ایران تهیه شده بودند تشکیل دادند. به‌منظور جفت‌گیری، سه سر رت مادر با یک سر رت نر به مدت ۲۴ ساعت در هر قفس گذاشته شدند. این موش‌ها سابقه جفت‌گیری نداشتند و برای اولین بار باردار می‌شدند. روش انجام این پژوهش از نوع تجربی (آزمایشگاهی) بود. مطالعه حیوانات براساس اصول مراقبت‌های حیوانات در آزمایشگاه صورت گرفت و یک چرخه شبانه‌روزی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی اعمال گشت. با بررسی و مشاهده پلاک واژنی، رت‌هایی که باردار شده بودند انتخاب شدند و آن روز به‌عنوان روز صفر بارداری تعیین گردید. پس از ۲۱ روز (دوره بارداری)، روز زایش به‌عنوان روز صفر در نظر گرفته شد و تزریق انسولین (۱۲ واحد در کیلوگرم) از روز اول تا روز هفتم شیردهی به مادران در زمان معین انجام گردید. هم‌زمان و برای جلوگیری از اثر مداخله‌ای تزریق بر نتایج پژوهش، به یک گروه سالیین تزریق شد. پس از دوران شیردهی (۲۲ روز پس از تولد)، نوزادان از مادر جدا شدند. سپس، در روز ۵۶ موش‌ها به‌منظور

بررسی و سنجش اکتساب و حافظه فضایی به دستگاه ماز آبی منتقل گشتند و پروتکل مربوطه اجرا گردید که در جدول زیر طرح آن مشاهده می‌شود.

جدول ۱- مراحل مختلف آزمون‌های اکتساب و حافظه فضایی

گروه	مرحله	روز	کوشش / نوبت	زمان هر کوشش	استراحت بین هر نوبت	استراحت بین هر کوشش
انسولین (n=12)	سازگاری	اول	۲×۴	۶۰ ثانیه	۲ دقیقه	۳۰ ثانیه
		دوم	۲×۴	۶۰ ثانیه	۲ دقیقه	۳۰ ثانیه
سالمین (n=12)	آزمون اکتساب	سوم	۲×۴	۶۰ ثانیه	۲ دقیقه	۳۰ ثانیه
		چهارم	۱×۴	۳۰ ثانیه	-	۳۰ ثانیه
کنترل (n=13)	آزمون حافظه فضایی (سکوی پنهان)	چهارم	۱×۴	۶۰ ثانیه	-	۳۰ ثانیه
		چهارم	۱×۴	۳۰ ثانیه	-	۳۰ ثانیه

دستگاه ماز آبی^۱ به منظور بررسی اثربخشی تجویز انسولین در دوران شیردهی بر حافظه فضایی فرزندان بالغ مورد استفاده قرار گرفت. بدین شکل که حوضچه آب تا ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر با دمای 20 ± 1 درجه سانتی‌گراد پر می‌شود و یک فرستنده نور مادون قرمز به رت متصل شده و مسیر حرکت حیوان از طریق یک دوربین مداربسته که نور مادون قرمز را ردیابی می‌کند به کامپیوتر انتقال می‌یابد و اطلاعاتی نظیر محاسبه زمان سپری شده تا پیدا کردن سکو توسط حیوان، محاسبه طول کل مسیر طی شده، محاسبه درصد زمان سپری شده در هر یک از ربع دایره‌های حوضچه، محاسبه درصد مسافت طی شده در هر یک از ربع دایره‌های حوضچه، محاسبه زاویه جهت‌گیری حیوان و محاسبه سرعت و مسیر حرکت شنای حیوان را تعیین می‌کند. به منظور انجام پژوهش، هر رت در روز اول آزمون در دو بلوک (هر بلوک شامل چهار کارآزمایی) جهت سازگاری در ماز آبی قرار گرفت. در روز دوم (مرحله سازگاری) و روز سوم (مرحله اکتساب)، رکوردهای مربوط به میزان مسافت و زمان طی شده برای رسیدن به سکو ثبت شد. در هر کارآزمایی، حیوان به گونه‌ای که صورتش به سمت دیوار حوض بود از یکی از چهار نقطه شروع (شمال، جنوب، شرق یا غرب) در آب رها می‌شد. هر یک از چهار نقطه شروع در هر نوبت، یک‌بار استفاده می‌شد و ترتیب آن‌ها به صورت تصادفی توسط کامپیوتر تعیین می‌گردید. در مرحله آنالیز داده‌ها، تعداد چهار رت به دلایل نبود انگیزش

1. Morris Water Maze

بینایی و اختلال در شرایط بینایی از مطالعه خارج شدند و آنالیز داده‌ها و ارائه نتایج براساس ۳۷ رت باقی‌مانده صورت گرفت.

علاوه‌براین، رکورد آزمودنی‌ها در پارامترهای میزان مسافت طی‌شده برای رسیدن به هدف و میزان زمان موردنیاز برای رسیدن به هدف در روز سوم اکتساب^۱ در دو نوبت هشت کوششی مورد ارزیابی قرار گرفت. یک کارآزمایی زمانی تمام می‌شود که رت بر روی سکو رفته باشد و یا ۶۰ ثانیه گذشته باشد که در این مرحله، زمان سپری‌شده و میزان مسافت طی‌شده مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از گذشت ۳۰ ثانیه استراحت، کارآزمایی بعدی شروع می‌شد و فاصله هر نوبت دو دقیقه بود. در روز چهارم، آزمون بدون سکو^۲ جهت سنجش حافظه فضایی آزمودنی‌ها در قالب یک کوشش به‌عمل آمد و به‌دنبال آن، آزمون سکوی آشکار^۳ به‌منظور سنجش هماهنگی بینایی حرکتی و حصول اطمینان از انگیرش آن‌ها مورد استفاده قرار گرفت. همچنین، آزمون یادداری در روز چهارم در قالب دو نوبت هشت کوششی (مانند مرحله اکتساب) انجام شد (۲). شایان ذکر است روز اول و دوم اجرای پروتکل، صرفاً جهت ایجاد سازگاری در موش‌ها اجرا گردید و آزمونی به‌عمل نیامد. آزمون روز سوم و چهارم نیز به‌لحاظ محتوای پروتکل کاملاً مجزا بود؛ بدین‌شکل که آزمون روز سوم، ۶۰ ثانیه‌ای و آزمون روز چهارم، (آزمون حافظه فضایی) ۳۰ ثانیه‌ای اجرا شد. قابل ذکر است در آزمون اکتساب، سکو در زیر سطح آب و در آزمون سنجش انگیختگی، سکو روی سطح آب بود.

به‌منظور توصیف آماری متغیرهای پژوهش از میانگین و خطای معیار میانگین استفاده شد و برای تحلیل استنباطی داده‌ها در آزمون اکتساب و حافظه فضایی، تحلیل واریانس یک‌طرفه به‌کار رفت و آزمون تعقیبی توکی نیز جهت تعیین اختلاف میان گروه‌ها مورداستفاده قرار گرفت. علاوه‌براین، محاسبات آماری از طریق نرم‌افزار آماری اس.پی.اس. نسخه ۲۰ انجام شد و سطح معناداری $P \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

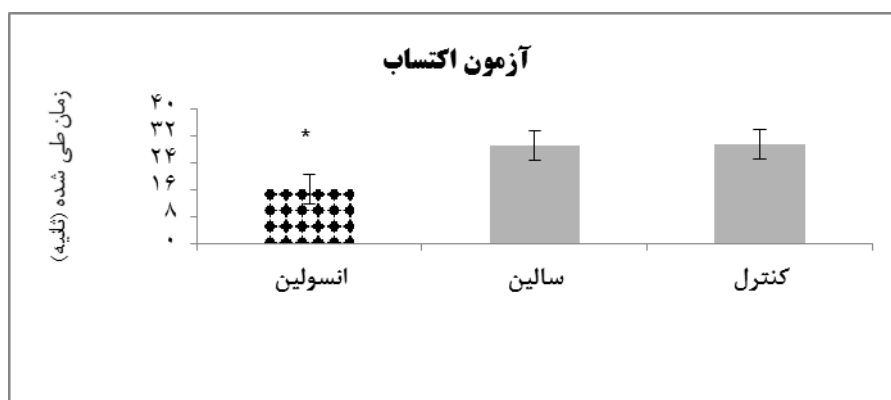
همان‌طور که در جدول شماره یک مشاهده می‌شود به‌منظور اطمینان از نبود اختلاف بین گروه‌ها (گروه انسولین، کنترل و سالیین)، پیش از بارداری و پیش از آزمون‌های پژوهش در نسل دوم، از آزمون تحلیل واریانس یک‌طرفه برای مقایسه گروه‌ها پیش از بارداری استفاده شد تا

-
1. Acquisition
 2. Probe Test
 3. Visible Test
 4. SPSS 20

حصول اطمینان از نبود اختلاف معنادار بین گروه‌ها رخ دهد. نتایج نشان می‌دهد که اختلاف معناداری بین گروه‌ها در هر دو پارامتر زمان طی شده و مسافت طی شده برای رسیدن به هدف وجود ندارد.

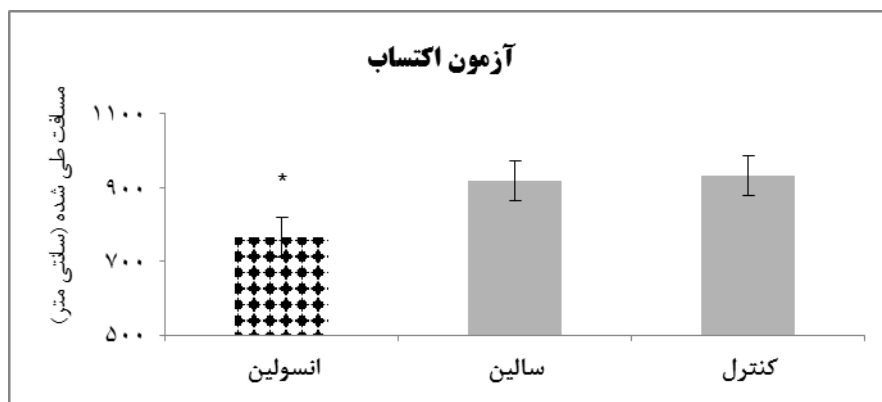
جدول ۱- آزمون تحلیل واریانس یک طرفه برای مقایسه میانگین عملکرد موش‌ها در پیش آزمون اکتساب و حافظه فضایی در گروه‌های مختلف

نام متغیر	درجه آزادی	ضریب F	معناداری	معنادار بودن عملی	توان آماری
زمان طی شده برای پیدا کردن سکو	۲	۰.۴۰۲	۰.۷۵۳	۰.۰۴۴	۰.۱۱۹
مسافت طی شده برای پیدا کردن سکو	۲	۰.۴۰۴	۰.۷۵۱	۰.۰۴۵	۰.۱۱۹



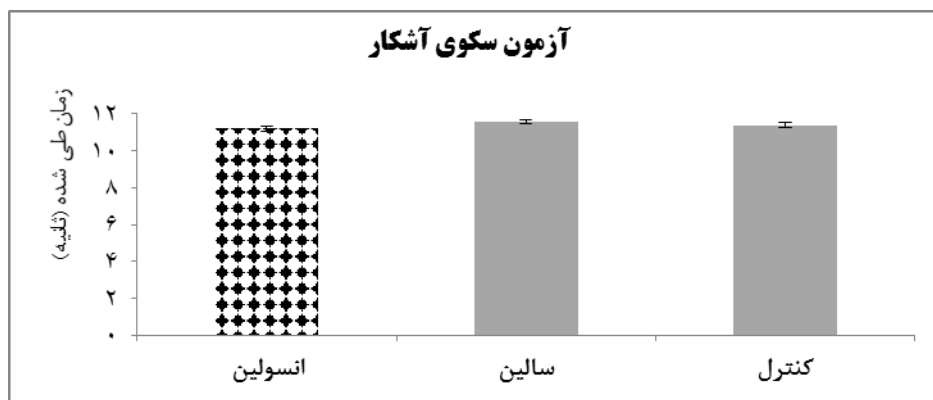
شکل ۱- اختلاف میانگین زمان طی شده گروه‌ها برای رسیدن به هدف در آزمون اکتساب * سطح معناداری ($P < 0.05$)

همان‌طور که شکل شماره یک نشان می‌دهد، اختلاف معناداری بین میانگین زمان طی شده در مرحله اکتساب بین گروه‌ها وجود دارد ($P=0.003$, $F=7.75$). نتایج آزمون توکی نیز نشان می‌دهد که گروه انسولین در مقایسه با گروه سالین و کنترل، عملکرد بهتری در آزمون اکتساب داشته است (به ترتیب $P < 0.002$ و $P < 0.001$).



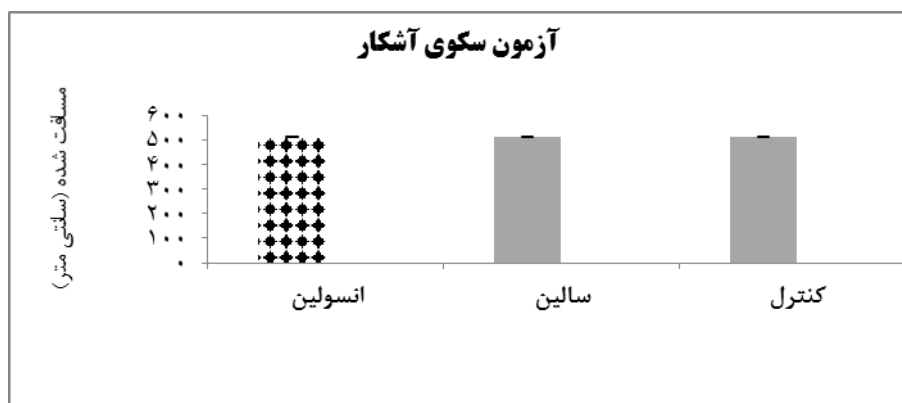
شکل ۲- اختلاف میانگین مسافت طی شده گروه‌ها برای رسیدن به هدف در آزمون اکتساب
* سطح معناداری ($P < 0.05$)

در شکل شماره دو مشاهده می‌شود که اختلاف معناداری در مسافت طی شده توسط گروه‌ها در مرحله اکتساب وجود دارد ($F=8.94$, $P=0.001$). نتایج آزمون توکی نیز نشان می‌دهد که گروه انسولین در مقایسه با گروه سالین و کنترل، عملکرد بهتری در آزمون اکتساب داشته است (به ترتیب $P=0.003$ و $P=0.001$).



شکل ۳- اختلاف میانگین زمان طی شده گروه‌ها برای رسیدن به هدف در آزمون سنجش انگیزندگی
** سطح معناداری ($P < 0.001$)

براساس شکل شماره سه مشخص می‌شود که اختلاف معناداری بین زمان طی‌شده توسط گروه‌ها در آزمون سنجش انگیختگی وجود ندارد ($P=0.402$, $F=0.75$). این امر مبین این است که تفاوت معناداری بین سطح دید و بینایی آزمودنی‌ها وجود ندارد.



شکل ۴- اختلاف میانگین زمان طی‌شده گروه‌ها در ربع هدف در آزمون حافظه فضایی

*سطح معناداری ($P<0.05$)

همان‌طور که شکل شماره چهار نشان می‌دهد، اختلاف معناداری بین زمان طی‌شده توسط گروه‌ها در مرحله آزمون سکوی پنهان (حافظه فضایی) وجود دارد ($P=0.002$, $F=4.71$). همچنین، آزمون توکی بیانگر این است که گروه انسولین در مقایسه با گروه سالین و کنترل، عملکرد بهتری در آزمون حافظه فضایی داشته است (به ترتیب $P=0.031$ و $F=0.012$).

بحث و نتیجه‌گیری

هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر تزریق درون‌صفاقی انسولین در دوران شیردهی مادران بر اکتساب و حافظه فضایی موش‌های صحرایی بالغ بود. نتایج پژوهش نشان داد که انسولین تأثیر معناداری بر آزمون‌های اکتساب و حافظه فضایی آزمودنی‌های گروه آزمایشی دارد؛ به‌نحوی که در تمامی پارامترهای مسافت طی‌شده و زمان طی‌شده برای رسیدن به هدف، عملکرد گروه آزمایشی به‌نحو چشمگیری پیشرفت داشت که نشانگر اثر تسهیل‌کنندگی انسولین بر یادگیری رت‌های بالغ می‌باشد. علاوه بر این، با توجه به نتایج آزمون سکوی آشکار، تفاوت معناداری بین سطح بینایی آزمودنی‌ها مشاهده نگردید که این امر مبین نبود تفاوت معنادار بین سطوح انگیختگی و بینایی

آن‌ها می‌باشد. در نتیجه، وجود تفاوت در آزمون‌های اکتساب و حافظه فضایی را می‌توان به اثر انسولین منتسب کرد.

نتایج به دست آمده در این پژوهش، مغایر با نتایج پژوهش کوف^۱ و همکاران (۱۹۹۹) می‌باشد. آن‌ها عنوان کردند تزریق درون صفاقی انسولین موجب اختلال در حافظه موش‌های سوری می‌شود. از دلایل احتمالی این تناقض می‌تواند متفاوت بودن آزمودنی‌ها (رت در مقابل موش سوری)، پروتکل اجرایی (تزریق مادر در دوران شیردهی در برابر تزریق به خود آزمودنی) باشد. در مقابل، هویر و همکاران (۲۰۰۲) در پژوهشی نشان دادند که انسولین می‌تواند اثرات تقویتی بر انواع حافظه داشته باشد که این یافته با نتایج پژوهش حاضر هم‌گرایی کامل دارد. با این تفاوت که تزریق انسولین محیطی در برابر تزریق مرکزی مقایسه شده است.

در حیطه متابولیسم محیطی بدن، انسولین را اغلب در ارتباط با اثرات آنابولیک آن بر تحریک جذب سلولی گلوکز، اسیدهای آمینه و تشکیل گلیکوژن می‌شناسیم. مطالعات اولیه‌ای که در زمینه متابولیسم گلوکز در مغز صورت گرفته است حاکی از آن می‌باشد که جذب سلولی گلوکز در سیستم اعصاب مرکزی، وابسته به انسولین نیست و لذا مغز در زمره بافت‌هایی قرار می‌گیرد که اصطلاحاً غیرحساس به انسولین هستند. این برداشت منجر به این شده است که نقش‌های بالقوه انسولین در سیستم اعصاب مرکزی کمتر مورد توجه واقع شود، اما اخیراً با اثبات حضور انسولین و گیرنده‌های آن در نواحی گوناگونی از مغز به‌ویژه در قشر مغز، هیپوکمپ و بطن سوم، این موضوع بیشتر مورد بحث و بررسی قرار گرفته است. همچنین، علاوه بر پژوهش‌های فراوانی که در حوزه اثرات انسولین بر فیزیولوژی مغز، اعمال شناختی و شکل‌پذیری سیناپسی انجام گرفته است، مطالعات زیادی نیز نقش اختلال در متابولیسم گلوکز و انسولین را بر آسیب‌شناسی بیماری‌های تحلیل‌برنده مغزی از قبیل آلزایمر مورد بررسی قرار داده‌اند (۲۵). انسولین، هورمونی پروتئینی است که پس از افزایش قندخون، به مقدار قابل توجهی از سلول‌های بتای پانکراس ترشح و باعث تنظیم غلظت خون می‌شود (۲۶). بر پایه اثبات حضور انسولین و گیرنده آن در نواحی مختلفی از مغز به‌ویژه هیپوکمپ، مطالعات بسیاری در مورد اثرات مرکزی آن بر حافظه انجام گردیده است.

در ارتباط با منشا حضور انسولین در مغز دو دیدگاه مطرح می‌باشد: ۱. انتقال انسولین پانکراس به مغز و ۲. تولید موضعی انسولین در بافت مغزی (۱). انتقال انسولین محیطی از پلاسما به مایع مغزی نخاعی در چندگونه حیوان گزارش شده است (۲۳، ۱)؛ به طوری که به نظر می‌رسد چنین انتقالی

1. Kopf

به واسطه یک فرایند انتقال فعال ترانس اندوتلیال و از طریق ناقل خاصی از عرض سد خونی - مغزی صورت می‌گیرد (۲۵). فرض است که تنظیم انسولین در دوران بارداری بر هم می‌خورد و به دنبال آن، اثرات آن در دوران شیردهی نیز تغییر می‌کند؛ بنابراین، هر محرک بیرونی مانند فعالیت بدنی که می‌تواند زمینه‌افزایش انسولین را مهیا کند می‌تواند منشا اثر باشد (۹).

علاوه‌براین، پژوهش جدیدی که توسط دانشمندان مرکز طبی کودکان دانشگاه سین سیناتی و دانشگاه دیویس کالیفرنیا انجام شده است بیانگر نقش انسولین در تولید موفقیت‌آمیز شیر مادر می‌باشد. این پژوهش برای اولین بار چگونگی حساس شدن شدید غدد شیری انسان به انسولین طی دوره شیردهی را توصیف می‌کند. این یافته بیانگر نقش انسولین در غدد شیری است. پژوهش جدید او چگونگی حساس شدن غدد پستان نسبت به انسولین طی دوره شیردهی را نشان داده است. برای مدت‌زمان طولانی تصور نمی‌شد که انسولین نقش مستقیمی در تنظیم سلول‌های شیرساز پستان داشته باشد، اما امروزه دانشمندان معتقد هستند که انسولین، عملکردی بیش از تسهیل جذب قند دارد و طی تبدیل پستان به کارخانه تولید شیر، یک تغییر شگرف در گیرنده‌های انسولین موجود در سلول‌های شیرساز و پیام‌های صادره از آن ایجاد می‌شود. نتیجه این تغییر، تولید شیر مادر است که حاوی مقادیر زیاد پروتئین، چربی و کربوهیدرات می‌باشد. (۲۷). عملکرد شناختی مغز، به تأمین قندخون کافی این ارگان وابسته است. انسولین نه تنها به عنوان تنظیم‌کننده متابولیسم گلوکز مطرح می‌باشد، بلکه به عنوان واسطه‌ای مهم در هیپوکمپ، در تنظیم فرایندهای شناختی نقش دارد. در واقع، انسولین مغز با اثر بر سیناپس‌های نورونی باعث افزایش فعالیت آن‌ها می‌شود و از این طریق بر فرایندهای ارتباطی بین سلول‌های عصبی تأثیر می‌گذارد. همچنین، افزایش سطح انسولین پلاسما منجر به افزایش گیرنده‌های حساس به انسولین در غشای پلاسمایی نورون‌های هیپوکمپ می‌شود و فعالیت شناختی و رفتاری را بهبود می‌بخشد. پژوهش‌ها نشان داده است که اختلالات غذایی همچون بی‌کیفیتی شیر مادر، بر فرایندهای عصبی - شیمیایی مغز نوزاد اثر گذاشته و منجر به عدم تکامل مناسب سیستم عصبی وی می‌شود که این امر در آینده، فرایندهای یادگیری را متأثر خواهد ساخت؛ به همین دلیل است که معمولاً از غذاهای کمکی برای نوزاد در جهت مرتفع کردن این نقصان استفاده می‌شود (۲۷). متخصصین علوم تغذیه نوزاد همواره به دنبال جستجوی اجزای عملکردی شیر انسان^۱ بوده‌اند تا به موجب آن بتوانند فرمول مؤثرتری را برای تولید شیرهای مصنوعی بسازند. با توجه به این که با افزایش انسولین در دوران شیردهی، کیفیت بهتری از کربوهیدرات، چربی و پروتئین در شیر مادر یافت می‌شود می‌توان نتیجه گرفت که دریافت انسولین

1. Functional Components of Human Milk

در دوران شیردهی، افزایش ریزمغذی‌ها در شیر مادر را به همراه دارد که این امر می‌تواند منجر به رشد و تکامل بهتر سیستم‌های مختلف بدن از جمله سیستم عصبی گردد. بهبود اکتساب و یادداری نیز از تبعات احتمالی این اثر است (۲۸،۲۹). اما، از آن‌جاکه میزان پروتئین موجود در شیر انسان به‌ازای هر لیتر نه گرم گزارش شده است، اما این میزان در رت‌ها برابر با ۱۲۰ گرم ثبت گردیده است (۳۰). همان‌طور که اشاره شد، تأثیر مثبت انسولین در دوران شیردهی بر یادگیری و حافظه فضایی فرزندان می‌تواند حاکی از آثار تعیین‌کننده رشدی و تأثیرگذاری احتمالی بر فرایندهای یادگیری باشد؛ بنابراین، حفظ و افزایش متعارف انسولین در دوران شیردهی می‌تواند آثار مثبتی را برای فرزندان به همراه داشته باشد؛ لذا، در تفسیر و مقایسه نتایج می‌بایست احتیاط بیشتری صورت بگیرد و پیشنهاد می‌شود اثرات مرکزی انسولین در انتقال ویژگی‌های حافظه‌ای در نسل بعدی نیز مورد بررسی قرار گیرد.

پیام مقاله: در کنار اثرات مرکزی انسولین در سیستم عصبی مرکزی به زعم تحقیقات متعدد صورت گرفته، که بهبود یادگیری و حافظه فضایی را در بر دارد، افزایش انسولین در دوران شیردهی، احتمالاً کیفیت بهتری از شیر مادر را به همراه داشته و این امر می‌تواند منجر به رشد و تکامل بهتر در سیستم عصبی گردد که در نتیجه بهبود اکتساب و یادداری نیز از تبعات احتمالی این اثر می‌باشد. در نتیجه، می‌توان اظهار کرد که انسولین می‌تواند بهبود یادگیری و حافظه فضایی را در انتقال نسل به همراه داشته باشد.

تقدیر و تشکر

بدین‌وسیله، مراتب تقدیر و تشکر خود را از تمامی پرسنل بخش فیزیولوژی انستیتو پاستور که من را در انجام این پژوهش یاری رساندند ابراز می‌دارم.

منابع

- Moradpour F, Naghdi N, Fathollahi Y, Javan M, Choopani S, Gharaylou Z. pubertal castration improves spatial learning during mid-adolescence in rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 2013; 46: 105–12.
- Zhao W, Daniel L. Alkon. Role of Insulin and Insulin receptor in learning and memory. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2001; 177(1-2): 125-34.
- Reger M A, Watson GS, Green PS, Baker LD, Cholerton B, Fishel MA, et al. Intranasal Insulin administration dose-dependently modulates verbal memory and Plasma β -Amyloid in memory-impaired older adults. *J Alzheimers Dis*. 2008; 13(3): 323–31.
- Stockhorst U, de Fries D, Steingrueber HJ, Scherbaum WA. Insulin and the CNS: Effects on food intake, memory, and endocrine parameters and the role of intranasal Insulin administration in humans. *Physiology & Behavior*. 2004;30; 83 (1):47-54.
- Bonin R P, De Koninck Y. A spinal analogue of memory reconsolidation enables the

- erasure of hyperalgesia. *Nat Neurosci*. 2014; 17(8): 1043–1045.
7. Nancy N H, McGough, Jennifer D, Thomas HD, Riley E. Insulin-like growth factor-1 mitigates motor coordination deficits associated with neonatal alcohol exposure in rats. *Neurotoxicol Teratol*. 2009; 31(1): 40–48.
 8. De Castro J M, Balagura S. Insulin pretreatment facilitates recovery after dorsal hippocampal lesions. *Physiol Behav*. 1976; 16(5): 517-20.
 9. Neeper S A, Gomez-Pinilla F, Choi J, Cotman C W. Physical activity increases mRNA for brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in rat brain. *Brain Res*. 1996; 8;726 (1-2):49-56.
 10. Palovic R A, Philips M I, Kappy M S, Raizada M K. Insulin inhibits pyramidal neurons in hippocampal slices. *Brain Res*. 1984; 309(1): 187-91.
 11. Ryan C M, Geckle M. Why is learning and memory dysfunction in type 2 diabetes limited to older adults? *Diabetes Metab Res Rev*. 2000; 16(5): 308-15.
 12. Claxton A, Baker L D, Hanson A, Trittschuh E H, Cholerton B, Morgan A, et al. Long-acting intranasal insulin detemir improves cognition for adults with mild cognitive impairment or early-stage Alzheimer's disease dementia. *J Alzheimers Dis*. 2015; 44(3): 897-906.
 13. Adzovic L, Lynn AE, Angelo HM, Crockett AM, Kaercher RM, Royer SE, et al. Insulin improves memory and reduces chronic neuroinflammation in the hippocampus of young but not aged brains. *Journal of Neuroinflammation*. 2015; 12 (63): 142.
 14. Arnold S E, Arvanitakis Z, Bakshi K P, Bennett D A, Fuino R L, Han L Y. Demonstrated brain Insulin resistance in Alzheimer's disease patients is associated with IGF-1 resistance, IRS-1 dysregulation, and cognitive decline. *J Clin Invest*. 2012; 122 (4): 1316–38.
 15. Najem D, Bamji-Mirza M, Callaghan D, Najem D, Shen S, Hasim M S, et al. Stimulation of Insulin signaling and inhibition of JNK-AP1 activation protect cells from amyloid- β -induced signaling dysregulation and inflammatory response. *J Alz Dis*. 2014; 40 (1): 105–22.
 16. Kopf S R, Barrati C M. Effects of post training administration of insulin on retention of a habituation response in mice: Participation of a central cholinergic mechanism. *Neurobiol Learn Mem*. 1999; 71(1): 50-61.
 17. Li H, Liu B, Huang J, Chen H, Guo X, Yuan Z. Insulin inhibits lipopolysaccharide-induced nitric oxide synthase expression in rat primary astrocytes. *Brain Res*. 2013; 19 (1506):1-11
 18. Bamji-Mirza M, Callaghan D, Najem D, Shen S, Hasim M S, Yang Z, et al. Stimulation of Insulin signaling and inhibition of JNK-AP1 activation protect cells from amyloid- β -induced signaling dysregulation and inflammatory response. *J Alzheimers Dis*. 2014;40 (1):105-22.
 19. Craft S, Newcomer J, Dagogo Jack S, Cryer P, Shellie Y, Lobby J, et al. A memory improvement following induced hyperinsulinemia in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 1996; 17(1): 123-30.
 20. Moosavi M N, Naghdi N, Maghsoudi S, Zahedi A S. The effect of intrahippocampal Insulin microinjection on spatial learning and memory. *Horm Behav*. 2006; 50 (5):748-52.
 21. Haj-ali V1, Mohaddes G, Babri SH. Intracerebroventricular Insulin improves spatial learning and memory in male wistar rats. *Behavioral Neuroscience*. 2009; 123(6): 1309-14.
 22. Mary G, Nitsch R, Hoyer S. Effects of changes in peripheral and cerebral glucose metabolism on locomotor activity, learning and memory in adult male rat. *Brain Res*. 1990; 5; 532 (1-2): 95-100.

23. Kamal A, Bissels G J, Duise S E, Gispen W H. learning and hippocampal synaptic plasticity in streptozocin –diabetic rats: Interaction of diabetes and aging. *Dialectologies*. 2000; 43(4): 500-6.
24. Farmer J, Zhao X, Van Praag H, Wodtke K, Gage F H, Christie B R. Effects of voluntary exercise on synaptic plasticity and gene expression in the dentate gyrus of adult male Sprague-Dawley rats in vivo. *Neuroscience*. 2004; 124(1): 71-9
25. Clarke JR, Lyra E Silva NM, Figueiredo CP, Frozza RL, Ledo JH, Beckman D, et.al. Alzheimer-associated A β oligomers impact the central nervous system to induce peripheral metabolic deregulation. *E MBO Molecular Medicine*. 2015; 7 (2): 190-210.
26. Havarankova J, Roth J, Brownstein M J. Concentrations of insulin and insulin receptors bin the brain are independent of peripheral insulin levels. *Studies of obese and streptozotocin treated rodents*. *J clin Invest*. 1979; 64(2): 342-62.
27. Whitmore TJ, Trengove NJ, Graham DF, Hartmann PE. Analysis of Insulin in human breast milk in mothers with type 1 and type 2 diabetes mellitus. *International Journal of Endocrinology*. 2012; 11 (2): 296-368.
28. Wang B. Sialic acid is an essential nutrient for brain development and cognition. *Annu Rev Nutr*. 2009; 29:177-222.
29. Cost KT, Lobell TD, Williams-Yee ZN, Henderson S, Dohanich G . The effects of pregnancy, lactation, and primiparity on object-in-place memory of female rats. *Hormones and Behavior*. 2014; 65(1): 32–9.
30. Jensen R G. *Handbook of milk composition*. San Diego: Academic Press; 1995; 2nd Edition: 543-575.

استناد به مقاله

طاهری مرتضی. تأثیر تزریق انسولین درون صفاقی در دوران شیردهی مادران بر اکتساب و حافظه فضایی موش‌های صحرایی بالغ. رفتار حرکتی. تابستان ۱۳۹۵؛ ۸(۲۴): ۱۷۳-۸۸.

Taheri. M. S. The Effect of Maternal Intraperitoneal Injection of Insulin on Offspring's' Spatial Learning and Memory. *Motor Behavior*. Summer 2016; 8 (24): 173-88. (In Persian)

The Effect of Maternal Intraperitoneal Injection of Insulin on Offspring's' Spatial Learning and Memory

M. Taheri¹

1. Assistant Professor at Imam Khomeini International University *

Received Date: 2015/10/04

Accepted Date: 2016/11/03

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effect of maternal Intraperitoneal injection of insulin on offspring's' spatial learning and memory. The research method was experimental. The pregnant Albino-Wistar rats were chosen. The vaginal plug appearance was considered as zero day of pregnancy. Insulin injection was started from 1st to 7th day. After lactation (22nd day), the infants were separated from their mothers. Then, the acquisition and spatial memory were evaluated in 56th day in Morris Water Maze. ANOVA and Post-hoc Tukey tests were used to analyze the data. The results suggested that Insulin group had a better performance in both acquisition and spatial memory in Time and distance parameters compared to Saline and control groups ($p < 0.05$). The findings demonstrated that increased insulin of lactation with optimal nutrients may lead to thoroughly development of different systems such as central nervous system. Conclusively, it can be stated that insulin may be effective peripherally in transferring generation effects.

Keywords: Insulin, Acquisition, Spatial Memory

* Corresponding Author

Email: taheri_morteza@yahoo.com