همین فایل قابل چاپ هست

تأثیر تابش لیزر کم‌توان فراجمجمه‌ای بر اختلالات حافظه اجتنابی و برهم‌کنش اجتماعی ناشی از بی‌وزنی شبیه‌سازی‌شده در موش نر نژاد Balb/C

سید زانیار اطهری[۱،۲]، سعید صدیق اعتقاد[۱]، جواد محمودی [۱]، فرشته فرج‌دخت [۱،۲*]

۱ – مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.

۲–استادیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: fereshteh.farajdokht@gmail.com

(دریافت مقاله: پذیرش نهایی:)

چکیده

تعاملات اجتماعی و اختلالات حافظه اجتنابی از عوارض اصلی و مهم مغزی به دنبال بی‌وزنی در شرایط فضانوردی می‌باشد. لیزر کم‌توان فراجمجمه‌ای یک روش غیرتهاجمی است که دارای اثرات محافظت‌کننده مغزی و بهبوددهنده عملکرد شناختی با تاثیر بر شکل‌پذیری نورونی در مغز است. هدف از این مطالعه، ارزیابی اثر تابش لیزر کم‌توان فراجمجمه‌ای بر اختلالات حافظه اجتنابی و تعاملات اجتماعی ناشی از بی‌وزنی شبیه‌سازی‌شده در موش‌های نر نژاد Balb/C می‌باشد. در این مطالعه تجربی، ۲٤ سر موش نر نژاد Balb/C به سه گروه مساوی شامل گروه‌های کنترل، بی‌وزنی القایی (HU) و همچنین HU به همراه تیمار با لیزر (HU+PBM) تقسیم شدند. مدل بی‌وزنی با استفاده از تکنیک معلق‌سازی اندام‌های خلفی (Hindlimb Unloading) به مدت ١٤ روز اعمال گردید و در گروه HU+PBM همزمان با القاء مدل، حیوانات با لیزر با طول موج ۸۱۰ نانومتر تیمار شدند. سپس ارزیابی رفتاری با آزمون‌های حافظه اجتنابی و تعامل اجتماعی انجام شد. همچنین، میزان عامل نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) به‌عنوان شاخصی از نوروپلاستیسیتی در بخش پره فرونتال مغز با روش ELISA اندازه‌گیری شد. داده‌های حاصله با آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه و تست تعقیبی توکی واکاوی شدند. یافته‌ها نشان دادند که بی‌وزنی شبیه‌سازی‌شده موجب کاهش معنی‌دار در شاخص‌های برهم‌کنش اجتماعی، اختلال در حافظه اجتنابی و افت سطح BDNF شد ($p<۰/۰۵$). در مقابل، تیمار با لیزر کم‌توان در گروه

HU+PBM به‌طور معنی‌دار این شاخص‌ها را بهبود بخشید ($p<۰/۰۵$). نتایج این مطالعه نشان داد که لیزر کم‌توان احتمالاً از طریق افزایش BDNF، می‌تواند به‌عنوان یک مداخله غیرتهاجمی مؤثر در مقابله با اختلالات تعاملات اجتماعی و حافظه اجتنابی ناشی از شرایط بی وزنی فضایی مطرح شود.

کلیدواژه‌ها: لیزرتراپی کم‌توان، برهم‌کنش اجتماعی، بی‌وزنی، فضانوردی، موش.

مقدمه

شرایط بی‌وزنی یا میکروگرانشی، به‌ویژه در طول مأموریت‌های فضایی بلندمدت، اثرات عمیق و گاه برگشت‌ناپذیری بر عملکردهای نوروفیزیولوژیک و روان‌شناختی انسان برجای می‌گذارد (Gupta et *al.*, 2023). بی‌وزنی با برهم‌زدن هومئوستاز مغزی، می‌تواند به کاهش عملکرد شناختی، اختلال در پردازش حافظه و تغییر در رفتارهای اجتماعی منجر شود (Lipshits and Levik, 2023). از نظر پاتوفیزیولوژیک، این اختلالات با افزایش استرس اکسیداتیو، فعال‌سازی مسیرهای التهابی در مغز و اختلال در عملکرد نورون‌های نواحی کلیدی نظیر هیپوکامپ، آمیگدال و قشر پیش‌پیشانی مرتبط هستند (Zhang *et al.*, 2023, Zhang *et al.*, 2025). چنین تغییراتی نه تنها کیفیت زندگی فضانوردان را در شرایط مأموریت‌های فضایی تهدید می‌کند، بلکه ممکن است به آسیب‌های بلندمدت عصبی نیز منجر شود.

بروز مشکلات شناختی و اختلال در برهم‌کنش‌های اجتماعی فضانوردان یکی از چالش‌های برجسته در مأموریت‌های فضایی است که این مشکلات می‌توانند تأثیر قابل‌توجهی بر کارایی و رفاه فضانوردان داشته باشند. بنابراین، شناسایی و مدیریت آن‌ها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Yin *et al.*, 2023). فضانوردان به طور معمول با فشارهای روانی و فیزیکی ناشی از انزوا، بی‌وزنی و محدودیت‌های حاکم بر فضا روبرو هستند، که این عوامل می‌توانند تأثیرات منفی بر عملکرد شناختی و اجتماعی آن‌ها بگذارد (Oluwafemi *et al.*, 2021). یکی از پیامدهای فیزیولوژیکی قابل توجه در شرایط میکروگرانش، افزایش استرس اکسیداتیو در بافت‌های عصبی است. در این شرایط، تعادل طبیعی بین تولید و پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن (reactive oxygen species; ROS) در سلول‌های مغزی برهم می‌خورد و منجر به انباشت ترکیبات اکسیدکننده می‌شود (Zhang *et al.*, 2025). این وضعیت به‌ویژه در نواحی حیاتی مغزی همچون هیپوکامپ و قشر پیش‌پیشانی اثرگذار است و به آسیب به ساختارهای سلولی مانند DNA، پروتئین‌ها و لیپیدهای غشایی می‌انجامد. چنین آسیب‌هایی موجب اختلال در انتقال سیناپسی، کاهش انعطاف‌پذیری سیناپسی و اختلال در فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (brain derived neurotrophic factor; BDNF) می‌شود که این عوامل برای تثبیت حافظه و تنظیم رفتارهای اجتماعی ضروری هستند (Liang *et al.*, 2022).

در حال حاضر، راهکارهای درمانی متعددی برای مقابله با اختلالات عصبی–رفتاری ناشی از بی‌وزنی مورد بررسی قرار گرفته‌اند که عمدتاً شامل تمرینات فیزیکی مقاومتی و استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدان است که به ترتیب با حفظ عملکرد سیستم عضلانی و گردش خون و کاهش استرس اکسیداتیو از سلول‌های عصبی محافظت می کنند (Gómez *et al.*, 2021, Gros *et al.*, 2024). با این حال، اثربخشی این مداخلات معمولاً محدود، کوتاه‌مدت و وابسته به دوز یا شرایط مصرف است. در سال‌های اخیر، توجه به روش‌های غیرتهاجمی مانند تحریک نوری مغزی (Photobiomodulation; PBM) با بهره‌گیری از یا لیزر کم‌توان به‌عنوان راهکاری مکمل یا جایگزین درمان‌های دارویی، افزایش یافته است، چراکه این روش‌ها علاوه بر ایمنی بالا، می‌توانند مستقیماً مسیرهای سلولی مرتبط با آسیب‌های نورونی را هدف قرار دهند.

در این میان، تابش لیزر کم توان فراجمجمه‌ای (transcranial low level laser) به‌عنوان روشی غیرتهاجمی، ایمن و نوظهور، توجه پژوهشگران حوزه علوم اعصاب را به خود جلب کرده است (Thunshelle and Hamblin, 2016). در این روش از تابش لیزر یا دیود نورگسیل (light-emitting diode; LED) با طول موج نزدیک به فروسرخ (near infra-red) برای تحریک غیرمستقیم ساختارهای مغزی استفاده می‌شود که می‌تواند از طریق بهبود عملکرد میتوکندری، افزایش تولید ATP، تعدیل استرس اکسیداتیو و مهار مسیرهای التهاب عصبی، عملکرد نورونی را بهبود بخشد (Abijo *et al.*, 2023). شواهد موجود نشان میدهد که تابش لیزر کم توان فراجمجمه‌ای می تواند در بهبود اختلالات شناختی، افسردگی، اضطراب و آسیب‌های مغزی موثر باشد (Montazeri *et al.*, 2021). اگر چه مطالعه اخیر ما نشان داد که تابش نزدیک به مادون قرمز می‌تواند اختلال حافظه فضائی ناشی از شرایط شبیه‌سازی شده بی‌وزنی را با کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب عصبی بخشد، اما کارایی این روش در بهبود دیگر اختلالات شناختی ناشی از بی وزنی همچون اختلال در حافظه کوتاه مدت و برهم کنش اجتماعی مورد ارزیابی قرار نگرفته است (Kazmi *et al.*, 2023). مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر تابش لیزر فراجمجمه‌ای بر اختلالات حافظه اجتنابی و برهم کنش اجتماعی طراحی شده است که بتواند به این پرسش پاسخ دهد که آیا تابش مکرر لیزر فرا جمجمه‌ای با طول موج ۸۱۰ نانومتر هم‌زمان با القای شرایط بی‌وزنی می‌تواند چنین اختلالات شناختی را در موش های کوچک آزمایشگاهی بهبود دهد؟

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی مداخله‌گر آزمایشگاهی می‌باشد. تمامی آزمایش‌ها توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تبریز (IR.TBZMED.AEC.1400.020) تایید شده و مطابق با دستورالعمل‌های موسسه ملی بهداشت برای نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. تعدا ۲٤ سر موش نر نژاد Balb/C با سن ۸ هفتگی از شرکت هما طب تبریز (تبریز، ایران) خریداری و به خانه حیوانات مرکز تحقیقات علوم اعصاب (تبریز، ایران) منتقل شدند. تمامی حیوانات در

قفس‌های مناسب با چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲ ساعته و در دمای ثابت (۲ ± ۲۵ درجه سانتی‌گراد) نگه‌داری شدند و دارای دسترسی آزاد به آب و غذا بودند. با گذشت یک هفته از آشنایی با محیط، حیوانات به‌طور تصادفی به سه گروه مساوی تقسیم شدند (هر گروه ۸ سر): گروه کنترل (Control)، گروه بی‌وزنی (hindlimb unloading: HU) و گروه بی‌وزنی به همراه لیزرتراپی (PBM+HU). تمامی پروسه مدل سازی و تیمار به مدت ١٤ روز انجام شد.

- **مدل بی وزنی (hindlimb unloading; HU)**: برای شبیه‌سازی مدل بی‌وزنی از تکنیک HU اصلاح‌شده استفاده شد (Ferreira, 2011). به طور خلاصه پنج روز قبل از شروع فرآیند HU، تحت بیهوشی استنشاقی با گاز ایزوفلوران (٤ درصد برای القای و ۲ درصد برای نگهداری بی‌هوشی) قرارگرفته و پس از ضدعفونی کردن دم موش با بتادین ۱۰ درصد، یک سوزن استریل سایز ۲۵ از ورای فضای بین‌مهره‌ای دمی ۵ و ٦ یا ۷ عبور داده شد تا مسیر وارد کردن حلقه استیل فراهم شود که بتواند وزن بدن موش را به‌طور متوازن در طی فرایند بی‌وزنی شبیه‌سازی شده پشتیبانی کند. سپس در ادامه، یک قطعه سیم استریل جراحی (طب آریا نیکان، ایران) با شماره ۰-۲ از مسیر به‌وجود آورده شده توسط سوزن عبور داده شد. پس از چندین بار پیچیدن سیم، ساختاری به شکل حلقه در بالای دم ایجاد شد که از آن برای آویزان کردن و معلق‌سازی حیوان استفاده شد. حیوانات (دو موش در هر قفس) در قفس‌هایی به ابعاد ۷۰×۵۰×۳۰ سانتی‌متر قرار گرفتند که در اتاقی با شرایط استاندارد (دمای ۲±۲٤ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ٦۰-٤۰ درصد و چرخه ۱۲ ساعته روشنایی و تاریکی) نگه‌داری شدند. پس از پنج روز ریکاوری، موش‌ها با اتصال حلقه دم به زنجیری که از قلاب‌های ماهیگیری و قلاب‌های فنری ساخته شده بود و به سقف قفس متصل بود، معلق شدند. ارتفاع زنجیر طوری تنظیم شد که اندام‌های خلفی معلق بمانند و حیوان فقط اجازه حرکت در زاویه ۳۰ درجه نسبت به صفحه افقی را داشته باشد و تنها نوک اندام‌های قدامی با کف قفس در تماس باشد (Kulikova *et al.*, 2017). تمامی موش‌ها به آب و غذا به‌طور آزادانه دسترسی داشتند. حیوانات گروه کنترل تحت جراحی ساختگی (ورود سوزن از ورای فضای بین‌مهره‌ای دمی ۵ و ٦ یا ۷) قرار گرفتند و مشابه گروه HU تیمار شدند، به‌جز اینکه حلقه دم وارد نشده و آویزان نشدند.

- **لیزر تراپی**: برای درمان حیوانات گروه PBM+HU از لیزر دیودی با طول موج ۸۱۰ نانومتر (شرکت مه فناور ظریف دیدگانی، تهران، ایران) و فرکانس ۱۰ هرتز، توان خروجی ۲۰۰ میلی‌وات، و با اندازه نقطه تابش ۰/۰۳ سانتی‌متر مربع استفاده شد (Salehpour *et al.*, 2019). در هر جلسه درمان، زمان تابش ۵ ثانیه بود که چگالی انرژی ۲۳/۷۵ ژول بر سانتی‌متر مربع را به پوست سر منتقل می‌کرد. همچنین، چگالی انرژی منتقل شده به سطح قشر مغز برابر با ۸ ژول بر سانتی‌متر مربع محاسبه شد. برای جلوگیری از هرگونه استرس، حیوانات در دستگاه HU نگه‌داری شدند و در عین حال

به‌طور ملایم توسط دست نگه داشته می‌شدند و نوک پروب لیزر در طول جلسات PBM روی خط میانه سطح پشتی سر در ناحیه بین چشم‌ها و گوش‌ها قرار می‌گرفت.

تمامی حیوانات گروه PBM+HU هر روز طی ١٤ روز فرآیند HU تحت درمان با PBM قرار گرفتند. تمام این روش‌ها برای حیوانات گروه HU نیز انجام شد، اما پروب دستگاه لیزر خاموش بود.

- سنجه‌های رفتاری

آزمایش برهم‌کنش اجتماعی (Social Interaction Test): برای انجام آزمایش تعامل اجتماعی از یک جعبه مستطیلی از جنس پلکسی‌گلاس (٦٠×٤٥×٥٠ سانتیمتر) استفاده شد که به سه اتاقک (دو اتاقک کناریو یک اتاقک مرکزی) مساوی تقسیم شده بود و هر اتاقک توسط دیوارهای شفاف با دربهای کشویی (٦×٦ سانتی‌متر) جدا شده بودند. در هر یک از دو اتاق کناری، دو محفظه خالی (١١×١٠ سانتی‌متر) که دارای میله‌های استوانی با فاصله ٠/٥ سانتی‌متر از همدیگر بود قرار داده شد. این آزمایش در سه مرحله متوالی انجام شد: مرحله سازگاری، اجتماعی بودن و حافظه اجتماعی.

در مرحله سازگاری، در حالی‌که هر دو محفظه خالی بودند، موش در اتاقک مرکزی قرار داده شده، سپس درب‌های کشویی باز شدند تا موش بتواند آزادانه تمام اتاقک‌ها و هر دو محفظه را به مدت ١٠ دقیقه جستجو کند. سپس موش به سمت اتاقک مرکزی هدایت شده و درب‌ها بسته شدند.

در مرحله دوم، یک موش بیگانه (بیگانه ١) در یکی از محفظه ها قرار داده شد و این در حالی بود که محفظه دیگر خالی نگه‌داشته شد. سپس درهای کناری باز شدند و موش آزمایش به مدت ١٠ دقیقه توانست تمام اتاقک‌ها و محفظه ها را بررسی کند. در این مرحله، شاخص اجتماعی بودن با تقسیم زمان صرف‌شده توسط موش آزمایشی برای تماس مستقیم با بیگانه١ (محبوس در یکی از محفظه‌ها) بر زمان کل صرف‌شده برای بررسی هر دو محفظه محاسبه شد.

آخرین مرحله آزمایش با قراردادن یک موش بیگانه دیگر (بیگانه ٢) در داخل محفظه ای که قبلا خالی بود، آغاز شد. در این مرحله، زمان صرف‌شده توسط موش آزمایشی برای تماس مستقیم با هر دو اتاقک برای مدت ١٠ دقیقه ثبت شد. شاخص "ترجیح تازگی" با تقسیم زمان صرف‌شده برای تماس مستقیم با اتاقکی که موش بیگانه ٢ در آن بود، بر زمان کل صرف‌شده برای تماس مستقیم با هر دو محفظه که موش بیگانه ١ و موش بیگانه ٢ در آن‌ها بودند، محاسبه شد داده های رفتاری این آزمون با استفاده از یک دوربین سقفی ضبط شده و از نرم‌افزار EthoVision™ (Noldus, The Netherlands)

جهت آنالیز آن‌ها استفاده شد. برای از بین بردن بوها و باقی‌مانده‌های بویایی، پس از هر مرحله از آزمایش، تمام سطوح با الکل اتیلیک ۷۰ درجه تمیز می‌شد (Salehpour *et al.*, 2018a).

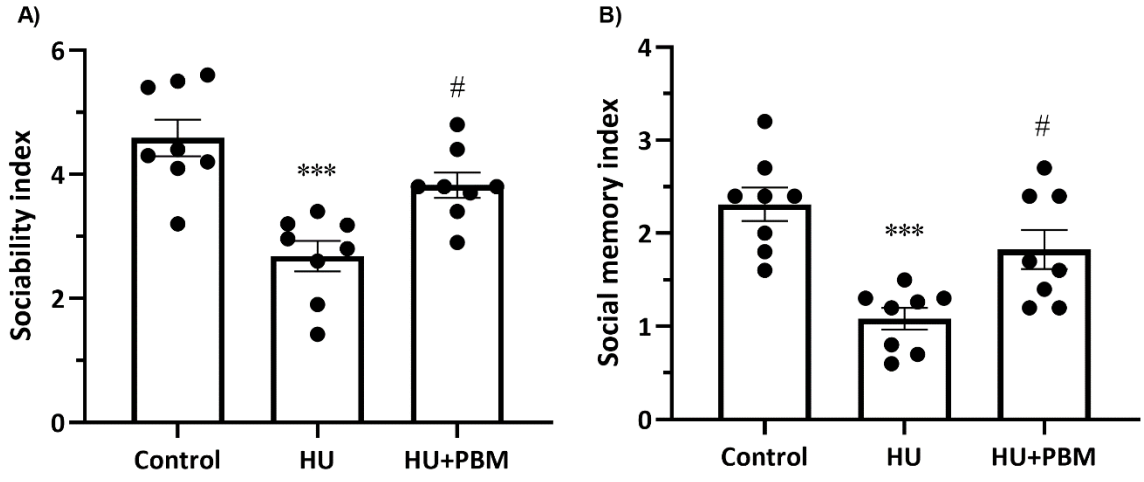
شاتل باکس (Shuttle Box): جهت ارزیابی حافظه اجتنابی، از آزمون شاتل باکس استفاده شد. دستگاه شاتل باکس شامل دو اتاقک مجزا، یکی تاریک و دیگری روشن، با ابعاد ۲۰ × ۲۰ × ۳۰ سانتی‌متر است که توسط یک در گیوتینی اتوماتیک از هم جدا شده‌اند. کف اتاقک تاریک از میله های استیل بوده که با فاصله ۰/۵ سانتی‌متر از همدیگر قرار گرفته و به جریان‌ساز الکتریکی متصل هستند تا محرک‌های الکتریکی کنترل‌شده ایجاد کند. این آزمون در سه مرحله مجزا انجام گرفت: در گیوتینی باز شده و به مدت ۳ دقیقه به هر حیوان اجازه داده شد تا به‌صورت آزادانه کل دستگاه، شامل اتاقک تاریک و روشن را کاوش کند و با محیط آشنا شود. در مرحله دوم (یادگیری)، ۳۰ دقیقه پس از عادت‌دهی، هر موش در اتاقک روشن قرار گرفت و پس از تأخیر ۱۰ ثانیه‌ای، در گیوتینی باز شد. به محض ورود موش به اتاقک تاریک، در بسته شد و یک شوک الکتریکی با شدت ۰/۱ میلی‌آمپر به مدت ۳ ثانیه از طریق کف شبکه‌ای اعمال گردید. پس از ۲۰ ثانیه، موش از دستگاه خارج و به قفس خود بازگردانده شد. در این مرحله، زمان تأخیر ورود اولیه به اتاقک تاریک به عنوان (initial step-through latency; Initial-STL) برای هر حیوان ثبت شد. پس از یک دوره استراحت ٢٤ ساعته، مرحله نگاه‌داشت (retention) برای ارزیابی حافظه بلندمدت این رویداد ناخوشایند انجام شد. در این مرحله، دستگاه شوک خاموش بود و در گیوتینی باز شد. سپس هر حیوان در اتاقک روشن قرار گرفت و زمان تأخیر ورود به اتاقک تاریک طی مدت ۳۰۰ ثانیه اندازه‌گیری شد که به عنوان (retention step-through latency; Retention-STL) ثبت گردید. میله های استیل شاتل باکس بعد از هر بار آزمون با الکل اتیلیک ۷۰ درجه پاک‌سازی شد (Seyedaghamiri *et al.*, 2021).

– **نمونه‌برداری و اندازه‌گیری میزان BDNF در ناحیه پره‌فرونتال مغز موش‌ها:** ٢٤ ساعت پس از انجام آخرین آزمون رفتاری، حیوانات با تزریق داخل صفاقی ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کتامین (آلفاسان، هلند) و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم زایلازین (آفاسان، هلند) بیهوش و سپس آسان‌کشی شدند (Seyedaghamiri *et al.*, 2021). پس از استخراج مغز و جداسازی بافت پره فرونتال طبق اطلس پاکسینوس انجام شد و نمونه‌ها در دمای ۸۰– درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس نمونه‌ها در محیط لیزیس همراه با مهارکننده‌های پروتئاز هموژنیزه و پس از سانتریفیوژ، سوپرناتانت جمع‌آوری گردید. غلظت پروتئین کل نمونه‌ها با روش Bradford تعیین شده و میزان BDNF با کیت اختصاصی ELISA مطابق دستورالعمل سازنده اندازه‌گیری شد. نتایج بر اساس منحنی استاندارد به غلظت BDNF بر میلی‌گرم پروتئین گزارش شده و جهت تحلیل آماری مورد بررسی قرار گرفت.

- **تحلیل آماری داده‌ها:** برای تحلیل داده‌های جمع‌آوری‌شده از نرم‌افزار گراف پد پریسم ۹ (Graphpad prism 9) استفاده شد. توزیع نرمال داده‌های به‌دست‌آمده توسط آزمون کولموگروف اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) بررسی شد و اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها توسط آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی (Tukey) موردبررسی قرار گرفت. داده ها به‌صورت میانگین±خطای استاندارد میانگین (mean±SEM) ارائه و اختلاف کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد.

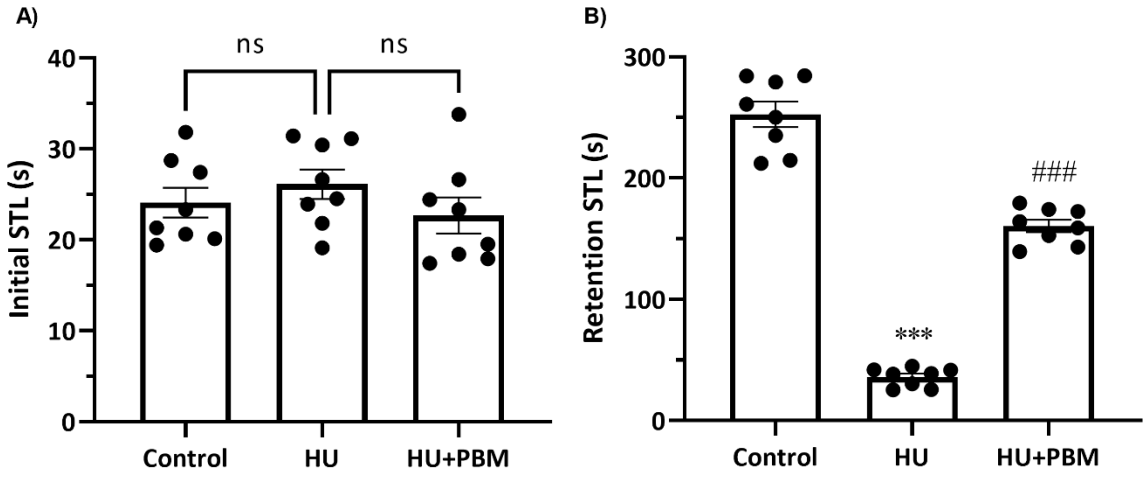
یافته‌ها

- **اختلالات برهم‌کنش اجتماعی ناشی از بی‌وزنی شبیه‌سازی‌شده:** تابش لیزر فراجمجمه‌ای سبب بهبود اختلالات برهم‌کنش اجتماعی ناشی از بی‌وزنی شبیه‌سازی‌شده در موش‌های کوچک آزمایشگاهی گردید. طبق نتایج بیان‌شده در نمودار ۱-A، شاخص اجتماعی‌بودن در موش‌های گروه HU به‌طور معنی دار نسبت به گروه کنترل کاهش یافت (p<۰/۰۰۱)، در حالی‌که این شاخص در گروه HU+PBM به طور معنی‌دار نسبت به گروه HU افزایش یافت (p<۰/۰۵). همچنین از لحاظ شاخص حافظه اجتماعی، موش های گروه HU کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان دادند (p<۰/۰۰۱)، در حالی‌که این شاخص در گروه HU+PBM به طور معنی‌دار نسبت به گروه HU افزایش یافت (p<۰/۰۵).



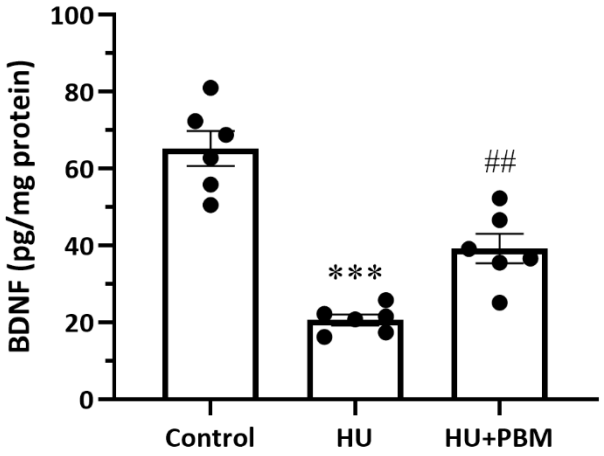
نمودار ۱- تأثیر تابش لیزر فراجمجمه‌ای بر: A) شاخص اجتماعی بودن (Sociability Index) و B) شاخص ترجیح تازگی(Novelty preference index) بین گروه‌های مورد مطالعه. داده‌ها به‌صورت میانگین±خطای استاندارد گزارش‌شده‌اند (n=۸). p<۰/۰۰۱ *** در مقایسه با گروه Control؛ p<۰/۰۵ # در مقایسه با گروه HU. (Hindlimb Unloading: HU، Photobiomodulation: PBM).

- **اختلالات حافظه اجتنابی ناشی از بی‌وزنی شبیه‌سازی‌شده:** تابش لیزر فراجمجمه‌ای سبب بهبود اختلالات حافظه اجتنابی ناشی از بی‌وزنی شبیه‌سازی‌شده در موش‌های کوچک آزمایشگاهی گردید. مطابق نتایج نمودار A-۲، از لحاظ میانگین شاخص Initial STL، بین گروه‌های مورد مطالعه هیچ تفاوت آماری معنی‌داری دیده نشد. درحالی‌که طبق نتایج بیان‌شده در نمودار B-۲ که بیانگر شاخص Retention STL می‌باشد، گروه HU به طور معنی‌داری کاهش این شاخص را نشان داد (p<۰/۰۰۱) در حالی‌که درمان با لیزر فراجمجمه‌ای این شاخص را در گروه HU+PBM به طور معنی‌داری افزایش داد (p<۰/۰۰۱).



نمودار ۲- تأثیر تابش لیزر فراجمجمه‌ای بر: A) شاخص Initial STL و B) شاخص Retention STL بین گروه‌های مورد مطالعه. داده‌ها به‌صورت میانگین±خطای استاندارد گزارش‌شده‌اند (n=۸). *** p<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه Control؛ ### p<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه HU. (HU: Hindlimb Unloading، PBM: Photobiomodulation، STL: Step-Through Latency).

- **افزایش سطوح BDNF در قشر پره‌فرونتال:** تابش لیزر فراجمجمه‌ای سبب افزایش سطوح BDNF در قشر پره‌فرونتال در موش‌های مورد مطالعه گردید. نمودار ۳ نشانگر میزان BDNF موش‌های مورد مطالعه می‌باشد. در این مطالعه، القاء بی‌وزنی در گروه HU سبب کاهش معنی‌دار این فاکتور نسبت به گروه شاهد شد (p<۰/۰۰۱)، درحالی‌که تیمار با لیزر در گروه HU+PBM سبب افزایش معنی دار BDNF نسبت به گروه HU شد (p<۰/۰۱).



نمودار ۳- تأثیر تابش لیزر فراجمجمه‌ای بر سطح BDNF در قشر پره‌فرونتال گروه‌های موردمطالعه. داده‌ها به‌صورت میانگین±خطای استاندارد گزارش‌شده‌اند (n=٦). *** p<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه Control؛ ### p<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه HU. (Hindlimb Unloading: HU، Photobiomodulation: PBM، Brain Derived Neurotrophic Factor: BDNF).

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه‌ی حاضر القاء مدل بی‌وزنی سبب کاهش تعاملات اجتماعی و همچنین اختلال در حافظه اجتنابی موش‌های مورد مطالعه شد. از طرفی القاء این مدل باعث کاهش میزان BDNF در قشر پره‌فرونتال نیز گردید. با این حال، تیمار با لیزر کم‌توان توانست سبب بهبود شاخص‌های اجتماعی، حافظه اجتماعی و حافظه اجتنابی در حیوانات تحت بی‌وزنی شبیه‌سازی شود و میزان BDNF را افزایش دهد.

مدل HU (hindlimb unloading) به عنوان یک روش معتبر برای شبیه‌سازی بی‌وزنی مزمن و ریزگرانش توصیف شد (Globus *et al*., 2016)، تا اثرات حاد و بلندمدت پروازهای فضایی (خارج از جو) بر سیستم‌های عضلانی-اسکلتی، قلبی-عروقی، هورمونی و عصبی فضانوردان را مطالعه کنند (Shang *et al*., 2017). مطالعات پیشین نشان داده‌اند که عملکرد شناختی و فعالیت مغزی تحت تأثیر پروازهای فضایی و همچنین شبیه‌سازی میکروگرانش در آزمایشگاه قرار می‌گیرند و این تأثیرات به صورت وابسته به زمان بروز می‌کنند. به عنوان مثال، در مطالعه‌ای توسط ژاگ و همکاران در سال ۲۰۱۸ گزارش شد که اعمال مدل HU به مدت ١٤ روز یا بیشتر (۲۱ یا ۲۸ روز) به طور قابل توجهی عملکرد شناختی موش‌ها را مختل می‌کند (Zhang *et al*., 2018). جالب توجه است که حتی دوره‌های کوتاه‌تر HU مانند ۳ روز نیز منجر به کاهش تعداد سلول‌های پیش‌ساز نورونی در هیپوکامپ می‌شود که این امر به دلیل سرکوب مسیر سیگنال‌دهی Erk1/2 در موش‌ها

گزارش شده است (Berezovskaya *et al*., 2021). علاوه بر این، مطالعات نشان داده‌اند که در فضانوردان، پروازهای فضایی باعث تغییراتی در رفتارها و عملکردهای شناختی می‌شود که از جمله این تغییرات می‌توان به اختلال در ادراک جهت‌یابی و حرکت، یکپارچگی حسی، انعطاف‌پذیری شناختی، خلق‌وخو و تعاملات اجتماعی اشاره کرد (Strangman *et al*., 2014, Hupfeld *et al*., 2021, Oluwafemi *et al*., 2021). این یافته‌ها اهمیت مدل HU را در درک اثرات ریزگرانش بر عملکردهای عصبی و شناختی برجسته می‌سازد.

در مطالعه‌ی حاضر، اعمال HU به مدت ١٤ روز در موش‌ها باعث بروز اختلال قابل توجهی در حافظه اجتنابی و تعاملات اجتماعی شد. برای ارزیابی حافظه اجتنابی، از آزمون شاتل باکس استفاده شد و نتایج نشان داد که موش‌های گروه HU به دلیل اختلال حافظه، کاهش چشمگیری در زمان شاخص Retention STL نسبت به گروه کنترل داشتند. با این حال، درمان با لیزر کم‌توان توانست با افزایش معنی‌دار زمان این شاخص، عملکرد حافظه اجتنابی موش‌های تحت تأثیر HU را بهبود بخشد. این یافته‌ها با مطالعات قبلی که نقش لیزر کم‌توان در بهبود حافظه و یادگیری را تأیید کرده‌اند، همسو است (Xuan *et al*., 2014).

علاوه بر این، نتایج آزمون تعامل اجتماعی نشان داد که مدل HU موجب کاهش معنی‌دار تعاملات اجتماعی در موش‌ها شد. این اختلال رفتاری احتمالاً با کاهش نوروپلاستیسیتی در نواحی کلیدی مغز مانند هیپوکامپ و قشر پیش‌پیشانی مرتبط است؛ نواحی‌ای که نقش مهمی در تنظیم رفتار اجتماعی، خلق‌وخو و پردازش اطلاعات اجتماعی دارند. مطالعات پیشین نیز به کاهش بیان فاکتورهای نوروتروفیکی مانند BDNF و کاهش سیناپتوژنز تحت شرایط شبه‌بی‌وزنی اشاره کرده‌اند (Nomura *et al*., 2012). در این مطالعه، درمان با لیزر کم‌توان توانست تعاملات اجتماعی را تا حد قابل قبولی بازگرداند. مکانیسم احتمالی این اثر، افزایش نوروپلاستیسیتی از طریق بالا بردن بیان BDNF، تحریک عملکرد میتوکندری و بهبود ارتباطات سیناپسی است؛ موضوعی که با یافته‌های قبلی درباره نقش لیزر کم‌توان در افزایش زنده‌مانی نورون‌ها، رشد شاخه‌های دندریتی و تقویت حافظه و یادگیری مطابقت دارد (Salehpour *et al*., 2018b).

ازآنجایی‌که BDNF یکی از عوامل اصلی در نوروپلاستیسیتی می‌باشد، مطابق مطالعات قبل، فرض بر آن است که تغییرات رفتاری ناشی از HU از طریق تغییر در سطح این فاکتور صورت می‌گیرد. در مطالعه حاضر، سطح BDNF در موش‌های مورد بررسی اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که قرار گرفتن موش‌ها در شرایط شبه‌بی‌وزنی به مدت ١٤ روز باعث کاهش معنی‌دار سطح BDNF نسبت به گروه کنترل شد؛ این موضوع تأییدی بر اثر منفی شرایط شبه‌بی‌وزنی بر فرآیندهای نوروپلاستیسیتی است. در مقابل، درمان با لیزر کم‌توان در گروه HU+PBM موجب افزایش معنی‌دار سطح BDNF نسبت به گروه HU شد و نشان داد با توجه به نتایج موجود، این فرضیه که تابش پرتو لیزر کم‌توان می‌تواند افزایش نوروپلاستیسیتی را در حیوانات گروه تیمار سبب شود، تقویت می‌شود. این یافته‌ها با نتایج مطالعات قبلی که کاهش

BDNF و اختلال در نوروژنز را در مدل HU گزارش کرده‌اند، همخوانی دارد (Yang and Zhang, 2016). همچنین گزارش شده است که لیزر کم‌توان می‌تواند با افزایش بیان BDNF، سبب بهبود عملکرد شناختی و رفتاری می‌شود که با مطالعه حاضر مطابقت دارد (Salehpour *et al*., 2018b). چنین شواهدی تأکید می‌کنند که BDNF می‌تواند یک مسیر مولکولی کلیدی در پاسخ به استرس‌های نوروفیزیولوژیک و مداخلات لیزری باشد. به‌طور کلی، مطابق با نتایج مطالعات قبل لیزر کم‌توان احتمالاً می‌تواند از طریق تقویت مسیرهای نوروپلاستیک، اثرات منفی ناشی از شرایط استرس‌زای نوروفیزیولوژیک مانند HU را بر رفتارهای اجتماعی کاهش دهد (Kazmi *et al*., 2023).

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که بی‌وزنی شبیه‌سازی‌شده، می‌تواند منجر به اختلال در تعاملات اجتماعی و حافظه اجتنابی شود. کاهش معنی‌دار سطح BDNF بافت پره‌فرونتال در این شرایط، نقش کلیدی این فاکتور نوروتروفیک را در بروز این اختلالات رفتاری برجسته می‌سازد. در مقابل، مداخله با لیزر کم‌توان فراجمجمه‌ای توانست با افزایش سطح BDNF، بهبود قابل توجهی در عملکردهای شناختی و اجتماعی موش‌های تحت مدل بی‌وزنی ایجاد کند. با توجه به نتایج موجود، این فرضیه که تابش پرتو لیزر کم‌توان می‌تواند افزایش نوروپلاستیسیتی را در حیوانات گروه تیمار سبب شود، تقویت می‌شود و می‌توان به‌عنوان یک رویکرد درمانی غیرتهاجمی و مؤثر در کاهش آسیب‌های عصبی ناشی از شرایط شبه‌فضایی مطرح شود و در آینده در تدوین راهکارهای مقابله با اثرات روان‌عصبی سفرهای فضایی مورد توجه قرار گیرد.

سپاسگزاری

نویسندگان از مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی تبریز تشکر و قدردانی می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی ندارند.

منابع

- Abijo, A., Lee, C.Y., Huang, C.Y., Ho, P.C. and Tsai, K.J. (2023). The Beneficial Role of Photobiomodulation in Neurodegenerative Diseases. Biomedicines, 11(7): 1828.

- Berezovskaya, A.S., Tyganov, S.A., Nikolaeva, S.D., Naumova, A.A., Shenkman, B.S. and Glazova, M.V. (2021). Plantar stimulations during 3-day hindlimb unloading prevent loss of neural progenitors and maintain ERK1/2 activity in the rat hippocampus. Life, 11(5): 449-507.
- Ferreira, J.A., Crissey, J.M. and Brown, M. (2011). An alternant method to the traditional NASA hindlimb unloading model in mice. Journal of visualized experiments: JoVE, 49: 2467.
- Globus, R.K. and Morey-Holton, E. (2016). Hindlimb unloading: rodent analog for microgravity. Journal of Applied Physiology, 120(10): 1196-1206.
- Gómez, X., Sanon, S., Zambrano, K., Asquel, S., Bassantes, M., Morales, J.E., *et al*. (2021). Key points for the development of antioxidant cocktails to prevent cellular stress and damage caused by reactive oxygen species (ROS) during manned space missions. Nature Partner Journals (npj) Microgravity, 7(35): 1-19.
- Gros, A., Furlan, F.M., Rouglan, V., Favereaux, A., Bontempi, B. and Morel, J.L. (2024). Physical exercise restores adult neurogenesis deficits induced by simulated microgravity. Nature Partner Journals (npj) Microgravity, 10(1): 69-91.
- Gupta, U., Baig, S., Majid, A. and Bell, S.M. (2023). The neurology of space flight; How does space flight effect the human nervous system?. Life Sciences in Space Research, 36(1): 105-115.
- Hupfeld, K.E., McGregor, H.R., Reuter-Lorenz, P.A. and Seidler, R.D. (2021). Microgravity effects on the human brain and behavior: Dysfunction and adaptive plasticity. Neuroscience & Biobehavioral Reviews, 122(3): 176-189.
- Kazmi, S., Farajdokht, F., Meynaghizadeh-Zargar, R., Sadigh-Eteghad, S., Pasokh, A., Farzipour, M., *et al*. (2023). Transcranial photobiomodulation mitigates learning and memory impairments induced by hindlimb unloading in a mouse model of microgravity exposure by suppression of oxidative stress and neuroinflammation signaling pathways. Brain Research, 1821: 148583.
- Kulikova, E., Kulikov, V., Sinyakova, N., Kulikov, A. and Popova, N. (2017). The effect of long-term hindlimb unloading on the expression of risk neurogenes encoding elements of serotonin-, dopaminergic systems and apoptosis; comparison with the effect of actual spaceflight on mouse brain. Neuroscience Letters, 640: 88-92.
- Liang, R., Wang, L., Sun, S., Zheng, C., Yang, J. and Ming, D. (2022). Medial prefrontal cortex and hippocampus in mice differently affected by simulate microgravity and social isolation associated with the alternation of emotional and cognitive functions. Life Sciences in Space Research, 33: 21-32.
- Lipshits, M. and Levik, Y.S. (2023). Cognitive Functions of the Brain: A Review of Research in Weightlessness. Human Physiology, 49(2): 165-175.
- Montazeri, K., Farhadi, M., Fekrazad, R., Akbarnejad, Z., Chaibakhsh, S. and Mahmoudian, S. (2021). Transcranial photobiomodulation in the management of brain disorders. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 221: 112207.
- Nomura, S., Kami, K., Kawano, F., Oke, Y., Nakai, N., Ohira, T., *et al*. (2012). Effects of hindlimb unloading on neurogenesis in the hippocampus of newly weaned rats. Neuroscience Letters, 509(2): 76-81.
- Oluwafemi, F.A., Abdelbaki, R., Lai, J.C.Y., Mora-Almanza, J.G. and Afolayan, E.M. (2021). A review of astronaut mental health in manned missions: Potential interventions for cognitive and mental health challenges. Life sciences in Space Research, 28(1): 26-31.
- Salehpour, F., Farajdokht, F., Mahmoudi, J., Erfani, M., Farhoudi, M., Karimi, P., *et al*. (2019). Photobiomodulation and coenzyme Q10 treatments attenuate cognitive impairment associated with

model of transient global brain ischemia in artificially aged mice. Frontiers in cellular neuroscience, 13: 74-91.

- Salehpour, F., Mahmoudi, J., Farajdokht, F. and Eyvazzadeh, N. (2018a). Noise Stress Impairs Social Interaction in Adult Male Mice: Role of Oxidative Stress and Neuroendocrine Markers. Crescent Journal of Medical & Biological Sciences, 5(4): 272-278.
- Salehpour, F., Mahmoudi, J., Kamari, F., Sadigh-Eteghad, S., Rasta, S.H. and Hamblin, M.R. (2018b). Brain photobiomodulation therapy: a narrative review. Molecular Neurobiology, 55(8): 6601-6636.
- Shang, X., Xu, B., Li, Q., Zhai, B., Xu, X. and Zhang, T. (2017). Neural oscillations as a bridge between glutamatergic system and emotional behaviors in simulated microgravity-induced mice. Behavioural Brain Research, 317(2): 286-291.
- Strangman, G.E., Sipes, W. and Beven, G. (2014). Human cognitive performance in spaceflight and analogue environments. Aviation, Space, and Environmental Medicine, 85(10): 1033-1048.
- Seyedaghamiri, F., Farajdokht, F., Vatandoust, S.M., Mahmoudi, J., Khabbaz, A. and Sadigh-Eteghad, S. (2021). Sericin modulates learning and memory behaviors by tuning of antioxidant, inflammatory, and apoptotic markers in the hippocampus of aged mice. Molecular Biology Reports, 48(2): 1371-1382.
- Thunshelle, C. and Hamblin, M.R. (2016). Transcranial Low-Level Laser (Light) Therapy for Brain Injury. Photomed Laser Surg, 34(12): 587-598.
- Xuan, W., Vatansever, F., Huang, L. and Hamblin, M.R. (2014). Transcranial low-level laser therapy enhances learning, memory, and neuroprogenitor cells after traumatic brain injury in mice. Journal of Biomedical Optics, 19(10): 108003-108003.
- Yang, W. and Zhang, H. (2016). Effects of hindlimb unloading on neurotrophins in the rat spinal cord and soleus muscle. Brain Research, 1630: 1-9.
- Yin, Y., Liu, J., Fan, Q., Zhao, S., Wu, X., Wang, J., *et al*. (2023). Long-term spaceflight composite stress induces depression and cognitive impairment in astronauts—insights from neuroplasticity. Translational Psychiatry, 13(1): 342-348.
- Zhang, X., Zhu, H. and Zhang, J. (2025). Oxidative Stress on the Ground and in the Microgravity Environment: Pathophysiological Effects and Treatment. Antioxidants, 14(2): 231-250.
- Zhang, Y., Huang, H., Yao, C., Sun, X., He, Q., Choudharyc, M.I., *et al*. (2023). Fresh Gastrodia elata Blume alleviates simulated weightlessness-induced cognitive impairment by regulating inflammatory and apoptosis-related pathways. Frontiers in Pharmacology, 14: 1173920.
- Zhang, Y., Wang, Q., Chen, H., Liu, X., Lv, K., Wang, T., Wang, Y., Ji, G., Cao, H. and Kan, G. (2018). Involvement of cholinergic dysfunction and oxidative damage in the effects of simulated weightlessness on learning and memory in rats. BioMed research International, 2018(1): 2547532.

Effect of transcranial laser irradiation on avoidance memory impairments and social interaction induced by simulated weightlessness in Balb/c male mice

Athari S.Z.[1, 2], Sadigh-Eteghad[1], S.,Mahmoudi J.[1] Farajdokht F.[1, 2*]

1- Neuroscience Research Center, Tabriz University of Medical Science, Tabriz, Iran.

2- Assistant Professor, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Science, Tabriz, Iran.

*Correspondence authors email: fereshteh.farajdokht@gmail.com

(Received:---------- Accepted:----------)

Abstract

Social interaction impairments and avoidance memory deficits are among the key neurological complications associated with microgravity during spaceflight. Transcranial low-level laser therapy (tLLLT), as a non-invasive intervention, has been proposed as a potential strategy to counteract these deficits by modulating brain plasticity. The aim of this study was to evaluate the effects of tLLLT on social interaction and avoidance memory disorders induced by simulated microgravity in male Balb/C mice. In this experimental study, 24 male Balb/C mice were randomly divided into three equal groups: Control, Hindlimb Unloading (HU), and HU with laser treatment (HU+PBM). Simulated microgravity was induced using the hindlimb unloading technique for a duration of 14 days and in the HU+PBM group, animals were treated with a laser at a wavelength of 810 nm concurrently with the induction of the HU model. Behavioral assessments were performed using the Inhibitory Avoidance test and the Social Interaction test. Additionally, prefrontal levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) were measured using the ELISA method as a biomarker of neuroplasticity. Data were analyzed using one-way ANOVA followed by Tukey's post hoc test. The results demonstrated that simulated microgravity significantly reduced sociability indices, impaired avoidance memory, and decreased BDNF levels ($p<0.05$). In contrast, laser treatment in the HU+PBM group significantly improved all of these parameters compared to the HU group ($p<0.05$). These findings suggest that transcranial low-level laser therapy, likely through upregulation of BDNF, may serve as an effective non-invasive approach for mitigating social and cognitive deficits induced by spaceflight-like conditions.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Astronautics, Low Level Laser, Memory, Mice, Weightlessness.