



Effect of acute administration of Cisplatin on memory, motor learning, balance and explorative behaviours in rats

Ahdiye Shojaei^{1,2}, Mohammad Shabani^{1*}, Asghar Pilevarian², Shahrnaz Parsania¹,
Moazamehosadat Razavinasab¹

1. Kerman Neuroscience Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

2. Dept. Biology, Esfahan Payame Noor University, Esfahan, Iran

Received: 1 Mar 2012

Accepted: 12 June 2012

Abstract

Introduction: For some cancer survivors chemotherapy treatment is associated with lasting motor and cognitive impairments, long after treatment cessation. Cisplatin as an anti-neoplastic agent is extremely toxic and can cause severe tissue damage. In the present study, we elucidated alteration in performance of hippocampus- and cerebellum-related behaviours following acute cisplatin treatment in male and female rats.

Methods: Male and female wistar rats (120) were divided randomly into eight (two controls [saline] and 6 cisplatin) groups. Cerebellum- and hippocampus-related behavioural dysfunction in cisplatin-treated (5, 10 and 15 mg/kg/week for 1 week) rats were analyzed using hippocampus and cerebellum- dependent function tasks (Morris Water Maze, Shuttle box, Rotarod and Open field).

Results: Exposure to cisplatin impaired motor coordination in male and female rats in all doses. In open field test, the rearing frequency, total distance moved and velocity of both males and females were dramatically affected by exposure to cisplatin. In Morris water maze test, male and female rats that were trained one week after cisplatin injection showed significant memory deficits compared to the saline-treated rats.

Conclusion: Hippocampal and cerebellum functions of male and female rats were profoundly affected by exposure to cisplatin. No sex-difference was observed in the most measured variables.

Key words: Cisplatin, motor activity, cerebellum, learning and memory

* Corresponding author e-mail: shabanimoh@yahoo.com
Available online at: www.phypha.ir/ppj

بررسی اثر مصرف حاد سیس پلاتین بر روی حافظه، یادگیری حرکتی، تعادل و رفتارهای جستجوگرانه موش‌های صحرایی

عهديه شجاعی^{۱،۲}، محمد شعبانی^{۱*}، اصغر پیله وریان^۲، شهرناز پارسانیا^۱، معظمه السادات رضوی نسب^۱

۱. مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان

۲. گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور اصفهان، اصفهان

پذیرش: ۲۳ خرداد ۹۱

دریافت: ۱۱ اسفند ۹۰

چکیده

مقدمه: اکثر بازماندگان مبتلا به سرطان که تحت درمان با مواد شیمی درمانی هستند دچار آسیب‌های شناختی و حرکتی می‌شوند. سیس پلاتین به عنوان یک داروی ضد سرطان بسیار سمی است و باعث آسیب شدید بافتی می‌شود. تحقیق حاضر با هدف ارزیابی اختلالات رفتاری مربوط به مخچه و هیپوکامپ، ناشی از تزریق حاد سیس پلاتین در دو جنس نر و ماده طراحی گردید.

روش‌ها: در این تحقیق ۱۲۰ سر موش صحرایی نر و ماده (نژاد ویستار) به طور تصادفی در ۸ گروه قرار گرفتند. گروه‌های شش‌گانه اول به ترتیب با دوزهای متفاوت (5, 10, 15 mg/kg/ip) درمان شدند و دو گروه آخر که گروه کنترل بودند، نرمال سالی‌ن دریافت کردند. فعالیت‌های حرکتی، رفتاری، حافظه و یادگیری حیوانات چهار روز پس از تزریق توسط آزمونهای روتارود، جعبه باز، شاتل باکس و مازآبی موریس بررسی شد.

یافته‌ها: قرار گرفتن در معرض سیس پلاتین موجب اختلال تعادل در موش‌های نر و ماده می‌شود. موش‌های نر و ماده تحت درمان سیس پلاتین در آزمون جعبه باز، تعداد بلند شدن روی دو پا، کل مسافت طی شده و سرعت حرکتشان به میزان زیادی تحت تأثیر قرار گرفتند، همچنین تفاوت معنی‌داری در یادگیری، حافظه فضایی و حافظه غیر احترازی در بین گروه‌های درمان و کنترل مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: عملکرد هیپوکامپ و مخچه در موش‌های نر و ماده به طرز فوق‌العاده‌ای تحت تأثیر سیس پلاتین قرار می‌گیرند در حالی که تفاوت قابل توجهی بین دو جنس نر و ماده وجود ندارد.

واژه‌های کلیدی: سیس پلاتین، فعالیت‌های حرکتی، مخچه، حافظه و یادگیری

مقدمه

نئوپلاسمیک می‌باشد که امروزه به صورت گسترده برای درمان تومورها مورد استفاده قرار می‌گیرد. سیس پلاتین ترکیب آلی قابل انحلال در آب می‌باشد که متشکل از اتم پلاتینیوم است [۱] و به طور وسیعی در درمان نئوپلازی‌های متنوعی از قبیل کارسینوماهای پیشرفته مثانه، کورتکس آدرنال، سینه، سر و گردن و ریه در انسان مصرف می‌شود [۷، ۲۴، ۳۱].

سیس پلاتین از طریق اتصال به DNA و با دخالت در مکانیسم‌های سلولی متفاوت می‌تواند باعث مرگ سلولی شود

یکی از شاخص‌ترین عوارض داروهای شیمی‌درمانی اختلالات سیستم عصبی مرکزی است، لذا حل این عوارض جانبی از جمله حیله‌هایی است که بعد وسیعی از تحقیقات را به خود اختصاص داده است. در این میان سیس پلاتین یا سیس دی آمین دی کلرو پلاتینیوم یکی از داروهای آنتی

shabanimoh@yahoo.com

www.phypha.ir/ppj

* نویسنده مسئول مکاتبات:

وبگاه مجله:

و تمایز سلولی هستند و نقش بسزایی که مخچه در یادگیری و تعادل حرکتی و هیپوکامپ در حافظه و یادگیری فضایی دارد و از طرفی اثرات نوروتوکسیک ترکیبات پلاتینی مانند سیس پلاتین بر روند رشد و تمایز سلولهای لایه گرانولار و پورکنز و سیستم نوروترانسمیتری مشخص شده است، اما بر اساس بررسی‌های ما، تاکنون در مورد تفاوت نوروتوکسیتی و حساسیت‌های ناشی از آن بر روی فعالیت‌های رفتاری و حافظه در دو جنس نر و ماده مطالعه‌ای انجام نشده است. بنابراین تحقیق حاضر باهدف بررسی اثر مصرف حاد سیس پلاتین بر روی فعالیت حرکتی، رفتار جستجوگر، حافظه فضایی و یادگیری احترازی غیر فعال موش‌های صحرایی در دو جنس نر و ماده پایه‌ریزی شد.

مواد و روش‌ها

جامعه آماری این مطالعه شامل ۱۲۰ سر موش صحرایی ماده و نر نژاد ویستار در محدوده سنی ۳۰-۲۰ روز به طور تصادفی انتخاب شده و در گروه‌های ۱۵ تایی شامل: ۱ و ۲- گروه‌های کنترل نر و ماده (دریافت کننده نرمال سالیین)، ۳ و ۴- گروه‌های نر و ماده دریافت کننده سیس پلاتین- دوز 5mg/kg، ۵ و ۶- گروه‌های نر و ماده دریافت کننده سیس پلاتین- دوز 10mg/kg، ۷ و ۸- گروه‌های نر و ماده دریافت کننده سیس پلاتین- دوز 15mg/kg تقسیم شدند. حیوانات به طور آزادانه به غذا و آب دسترسی داشتند. از غذای فشرده (کنستاره) جهت تغذیه استفاده شد. دمای محیط کنترل شده به میزان ۲۲-۲۰ درجه سانتیگراد و سیکل روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعته در نظر گرفته شد. کلیه آزمایش‌ها در زمان روشنایی، بین ساعات ۸ صبح الی ۴ عصر به منظور جلوگیری از تأثیر ریتم شبانه‌روزی حیوان بر آزمایش‌ها انجام گرفت. حیوانات یک ساعت قبل از شروع آزمون به آزمایشگاه منتقل می‌شدند تا با شرایط آزمایشگاه خو بگیرند. به منظور ارزیابی نقص حرکتی احتمالی، تعادل، رفتار جستجوگرانه و حافظه حیوانات از آزمون‌های جعبه باز^۱، روتارود^۲، ماز آبی

[۲۲]. سیس پلاتین در صورتی که در دوره رشد بخصوص پس از تولد مصرف شود از راه‌های متفاوتی می‌تواند روی رشد سلول‌های مخچه و هیپوکامپ تأثیر بگذارد. مصرف داروهای شیمی درمانی در طول دوره رشد به دلیل نتایجی که می‌تواند بر روی رشد نوزاد داشته باشد، مشکلی اساسی در سلامتی ایجاد می‌کند. تجویز این داروها در زمان تکامل سیستم عصبی تأثیر بسزایی روی چندین سیستم نوروترانسمیتری از قبیل سروتونرژیک، آدرنرژیک و گلوتاماترژیک دارد. بدین جهت باعث تغییرات اساسی و طولانی مدت روی الگوهای رفتاری می‌شوند [۷، ۹، ۱۷، ۱۸، ۲۸، ۲۹، ۳۱]. یکی از مناطق سیستم عصبی مرکزی که مشخص شده تحت تأثیر داروهای شیمی درمانی قرار می‌گیرد، مخچه است. تزریق تک دوز سیس پلاتین در موش‌های ۱۰ روزه مشخص شده که می‌تواند باعث تغییراتی در بیان رسپتورهای سروتونین و نورآدرنالین شود. مونوآمین‌های سروتونین و نورآدرنالین روی تشکیل مدار کورتکس مخچه نقش بسزایی ایفا می‌کنند. سیس پلاتین از طریق تغییر در بیان رسپتورهای آدرنرژیک و سروتونرژیک در لایه سلول‌های گرانولار و پورکنز باعث تغییر در مهاجرت و تکثیر سلول‌های گرانولار و پورکنز می‌شود. همچنین برخی مطالعات تأثیر مصرف دوران نوزادی سیس پلاتین بر روی رشد دندریتهای سلولهای پورکنز را ثابت کرده‌اند [۳۱].

تحقیقات بالینی و آزمایشگاهی در مورد بیماران سرطانی نشان داده است که شیمی‌درمانی با اختلالات شناختی و حرکتی طولانی مدت رابطه دارد [۱۰]. از طرفی مطالعات هیستولوژی و بافت‌شناسی نشان داده است که شیمی‌درمانی بر هیپوکامپ و ساختمان‌هایی که در حافظه و یادگیری نقش دارند اثر می‌گذارد. از آنجا که هیپوکامپ به جهت داشتن دسته‌ای از نورن‌ها که سلول‌های مکانی نامیده می‌شوند و نسبت به موقعیت حیوان در فضا، الگوی شلیک نورونی خاصی را نشان می‌دهند، نقش پر اهمیتی را در حافظه و یادگیری فضایی ایفا می‌کند [۱۶، ۲۳] همچنین هیپوکامپ هدف بالقوه‌ای برای تأثیرات زیان بار داروهای مانند عوامل ضد سرطانی از طریق سرکوب نورون‌هایش می‌باشد [۴۲]. با توجه به اینکه مخچه و هیپوکامپ مدلی مفید برای ارزیابی نتایج درمانی با مواد شیمی درمانی در دوران نوزادی و جنینی بر روی روندهای کلیدی توسعه و رشد سیستم عصبی - مرکزی از قبیل تکثیر، مهاجرت

1. Open Filed
2. Rotarod

آزمون ماز آبی موریس^۱: ماز آبی موریس: ماز آبی موریس حوضچه دایره ای شکل تیره رنگی به قطر ۱۶۰ و ارتفاع ۶۰ سانتیمتر است که تا ارتفاع ۳۵ سانتیمتر با آب با دمای ۲۵±۲ پر می‌شود. این حوضچه به لحاظ جغرافیایی به ۴ ربع دایره مساوی شمال، جنوب، غرب و شرق تقسیم می‌شود و در هر ربع دایره یک نقطه برای رها کردن حیوان در آب در نظر گرفته شده است. یک سکو به قطر ۱۰ سانتیمتر در مرکز ربع دایره هدف، ۱/۵ سانتیمتر در زیر سطح آب و به صورت غیر قابل رویت قرار دارد. بر روی دیوارهای اتاق در اطراف ماز سرنخ‌های فضایی که اشکال هندسی متفاوت هستند، نصب می‌شود. عملکرد حیوان از طریق یک دوربین مداربسته که متصل به سقف بالای ماز است به کامپیوتر و نرم افزار مربوطه منتقل شده تا پارامترهای لازم از جمله زمان و مسافت طی شده تا یافتن سکو و همچنین سرعت حرکت حیوان ثبت شود. در این مطالعه، آزمایش رفتاری در یک روز صورت می‌گیرد. در ابتدا یادگیری فضایی حیوانات بررسی می‌شود که ۳ بلوک با فاصله ۳۰ دقیقه از یکدیگر انجام می‌گیرد که هر بلوک خود شامل ۴ تریال است. در هر تریال حیوان از یکی از ربع دایره های ۴ گانه که دستگاه بطور تصادفی انتخاب می‌کند به داخل آب رها شده (طوری که سر حیوان به سمت دیوار ماز قرار دارد) و حداکثر ۶۰ ثانیه فرصت دارد تا با استفاده از سرنخ‌های فضایی اطراف، سکوی پنهان در زیر سطح آب را پیدا نموده و بر روی آن استراحت کند. اگر حیوان در مدت این ۶۰ ثانیه موفق به پیدا کردن سکو نشود، محقق آن را با دست به سمت سکو هدایت می‌کند. در هر صورت حیوان پس از قرار گرفتن بر روی سکو ۳۰ تا ۳۵ ثانیه بر روی آن استراحت نموده و سپس ۳۰ تا ۳۵ ثانیه هم در داخل قفس و زیر لامپ استراحت می‌کند. تریال‌های بعدی نیز به همین صورت و با رها کردن حیوان از سایر ربع دایره‌ها انجام می‌شود. در هر بلوک حیوان از ۴ ربع دایره مختلف به داخل آب رها می‌شود. مدت زمان سپری شده و مسافت پیموده شده تا یافتن سکوی پنهان در این سه بلوک به عنوان معیاری از یادگیری فضایی حیوان محسوب می‌شود. دو ساعت پس از اتمام آخرین تریال یادگیری، آزمون پروب بمنظور بررسی حافظه فضایی حیوانات انجام می‌گیرد. این آزمون شامل یک تریال منفرد است که در آن سکوی پنهان از داخل ماز برداشته شده و حیوان از ربع مخالف ربع دایره هدف

موریس^۱ و شاتل باکس^۲ استفاده شد. حیواناتی که در آزمون‌های جعبه باز و روتارود دچار اختلال حرکتی واضحی نبودند، در آزمون‌های حافظه و یادگیری مورد بررسی قرار می‌گرفتند. با توجه به اینکه معمولاً داروهای شیمی درمانی در بخش بالینی به صورت تک دوز یا دو بار در هفته استفاده می‌شود در این تحقیق با توجه به مقالات [۷، ۹، ۳۱، ۴۱]، دوزهای ۵، ۱۰ و ۱۵ mg/kg سیس پلاتین (تهیه شده از شرکت داروئی حیان) به صورت تک دوز استفاده شد و ۴ روز پس از آخرین زمان تزریق آزمونهای رفتاری در هر گروه به صورت جداگانه در طی یک هفته انجام شد.

آزمون جعبه باز: تجهیزات این آزمایش شامل یک صفحه چهارگوش ساخته شده از چوب سیاه بود و کف آن با خطوطی به ۱۶ مربع (با ابعاد ۵۶*۵۶ سانتی متر و ارتفاع ۴۰ سانتی متر) تقسیم شده بود. در ابتدا هر موش در مرکز صفحه قرار داده شد و فعالیت آن برای ۵ دقیقه ثبت شد و سپس پارامترهای رفتاری شامل: کل مسافت جابجا شده، طول مدت تحرک، عدم تحرک و فرکانس بلند شدن روی دو پا توسط نرم افزار اتوویژن ثبت و مورد بررسی قرار گرفتند. در انتهای آزمون هر موش، از جعبه باز، برداشته شده و محفظه آزمایش به طور کامل با یک پارچه مرطوب پاک و سپس خشک شد [۳۶، ۳۸].

آزمون روتارود: برای بررسی فعالیت‌های تعادلی و قدرت هماهنگی حرکتی بین اندام‌ها از دستگاه روتارود استفاده شد. برای ارزیابی فعالیت تعادلی توسط این دستگاه حیوان روی میله افقی چرخنده به قطر ۳ سانتیمتر در حال چرخش با سرعت اولیه ۱۰ دور در دقیقه قرار گرفت. سرعت نهایی از ۱۰ به ۶۰ دور در دقیقه در ظرف ۳۰۰ ثانیه افزایش داده شد و زمان حفظ تعادل و باقی ماندن روی میله برای هر حیوان ثبت شد. ابتدا به هر حیوان دو بار فرصت برای عادت کردن و تطابق با دستگاه داده شد و سپس سه بار دیگر حیوان روی دستگاه قرار گرفته و میانگین زمان بدست آمده محاسبه می‌شد. بعد از هر بار قرار دادن حیوان روی دستگاه، مدت زمان کافی برای استراحت به حیوان داده می‌شد و سپس فعالیت تعادلی دوباره اندازه گیری می‌شد [۱۲، ۳۷].

1. Morris Water Maze
2. Shuttle Box

SPSS.17 نرمالیتی آنها بررسی شد و سپس جهت مقایسه متغیرهای کمی بین گروهها از آزمون ANOVA و در صورت معنی دار شدن از آزمون TUKEY استفاده شد. در صورت عدم رعایت مفروضات از معادل NONPARAMETRIC kruskal - wallis استفاده شد. $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی دار بودن در نظر گرفته شد. داده‌ها به صورت $Mean \pm SEM$ بیان شد.

یافته‌ها

فرکانس چرخیدن بر روی میله گرد در آزمون روتارود در موش‌های نر و ماده ای که در معرض سیس پلاتین با دوزهای متفاوت (۵، ۱۰، ۱۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن) قرار گرفتند به طور قابل ملاحظه ای کاهش پیدا کرد (گروه نر به ترتیب در دوزهای ۵، ۱۰، ۱۵، $P < 0.05$ ، $P < 0.001$ ، $P < 0.001$ و در گروه ماده دوز ۱۵ $P < 0.0001$) (شکل ۱).

در ارزیابی تأثیر مصرف حاد سیس پلاتین بر فعالیت حرکتی در آزمون جعبه باز تفاوت قابل ملاحظه‌ای در پارامترهای Mobility و immobility مدت زمان ماندن در منطقه محیطی و منطقه مرکزی در بین گروه‌های کنترل و دریافت کننده سیس پلاتین مشاهده نشد. در تعداد Rearing کاهش معنی داری در گروه‌های تحت تیمار سیس پلاتین با گروه کنترل دیده شد ($P < 0.01$) (شکل ۲).

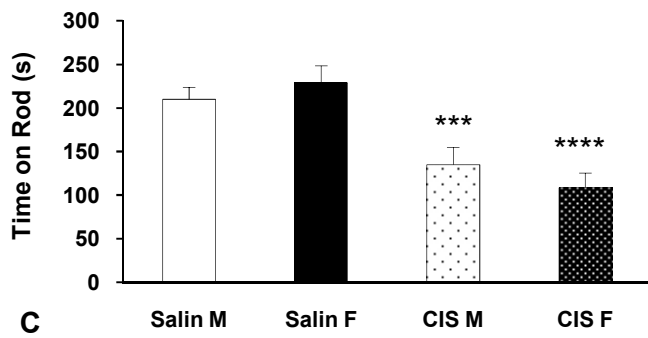
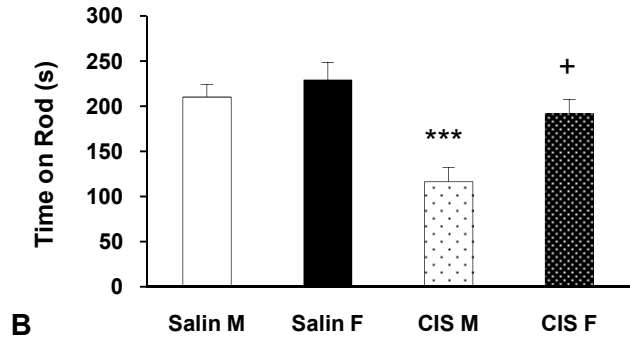
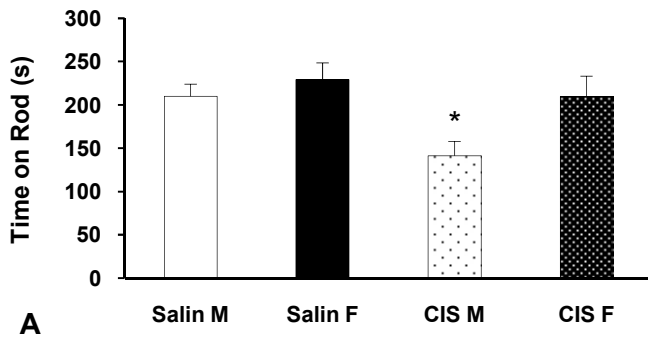
در تحقیق حاضر نتایج حاصل از مصرف حاد سیس پلاتین با دوز متفاوت ۵، ۱۰، ۱۵ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بر روند اکتساب و بخاطر آوری، حاکی از کاهش معنی داری ($P < 0.001$) در معیار STL (مرحله سازش) در بین هر دو گروه نر و ماده تحت درمان با سیس پلاتین نسبت به گروه کنترل است (شکل ۳).

در بررسی روند یادگیری در آزمون ماز آبی موریس، کاهش مدت زمان و مسافت پیموده شده تا سکوی هدف گروه‌های کنترل و گروه‌های تحت تیمار در ترابالهای دوم و سوم نشان داد که تمام گروه‌ها توانایی یادگیری و یافتن سکوی هدف را داشتند. در مقایسه میزان مسافت طی شده گروه‌های نر و ماده در بلوک‌های ۲ و ۳ تحت تیمار سیس پلاتین با دوز ۵، ۱۰ و ۱۵ mg/kg افزایش معنی داری را نسبت به گروه کنترل نشان

به داخل آب رها شده به مدت ۶۰ ثانیه آزادانه در آب شنا می‌کند. لذا متغیرهای مورد بررسی در این آزمون مدت زمان حضور و مسافت پیموده شده در ربع دایره ای است که قبلاً سکو در آن واقع بوده و همچنین تعداد دفعات ورود به این ربع دایره می‌باشد [۳۷، ۱۵].

آزمون یادگیری احترازی غیر فعال: جهت بررسی اختلال احتمالی ناشی از مصرف سیس پلاتین بر روی سیستم حافظه در آزمون یادگیری احترازی غیر فعال از جعبه دو قسمتی (شاتل باکس) استفاده شد که از دو محفظه تاریک و روشن با اندازه برابر و یک درب گیوتینی قابل کنترل بین آنها تشکیل شده است. در انتهای دوره درمان، حیوان برای سازش و عادت به فضای داخل دستگاه، در بخش روشن قرار می‌گرفت که رو به سمت مقابل بخش تاریک است، بعد از ۱۰ ثانیه درب بین دو محفظه باز و اجازه داده می‌شد حیوان آزادانه وارد بخش تاریک گردد. در این مرحله زمان تأخیر در ترک بخش روشن و ورود به قسمت تاریک ثبت می‌شد. اگر این زمان بیش از ۶۰ ثانیه طول می‌کشید به علت انگیزه کم حیوان برای ترک بخش روشن و ورود به قسمت تاریک، از مطالعه حذف می‌گردید. دو ساعت بعد از تجربه سازش مرحله آموزش یا اکتساب انجام می‌شد [۳۷، ۴۰]. در این مرحله، حیوان به همان صورت قبل داخل ناحیه روشن قرار داده می‌شد. در مرحله آموزش شبیه سازش است، به جزء اینکه بلافاصله بعد از ورود حیوان به محفظه تاریک درب گیوتینی بسته و شوک الکتریکی (با فرکانس ۵۰ هرتز، شدت ۰/۵ میلی آمپر و مدت ۲ ثانیه) به کف دست و پای حیوان داده می‌شد و پس از ۲۰ ثانیه، حیوان به قفس بازگردانده می‌شد. بعد از دو دقیقه حیوان مجدداً در بخش روشن قرار گرفته و مرحله آموزش تکرار می‌گردید و اگر دوباره وارد ناحیه تاریک می‌شد، شوک می‌گرفت و تعداد دفعات دریافت شوک ثبت می‌شد. بمنظور آزمون به خاطر آوری، در ۲۴ ساعت پس از آموزش، پاسخ‌های احترازی غیر فعال مجدداً اندازه گیری می‌شد. در این مرحله به حیوان شوک داده نمی‌شد و ماکزیمم زمان برای ورود به منطقه تاریک سیصد ثانیه بود. مدت زمان تأخیر در ورود مجدد به محفظه تاریک (STL) اندازه گیری می‌شد [۲۵، ۴۰].

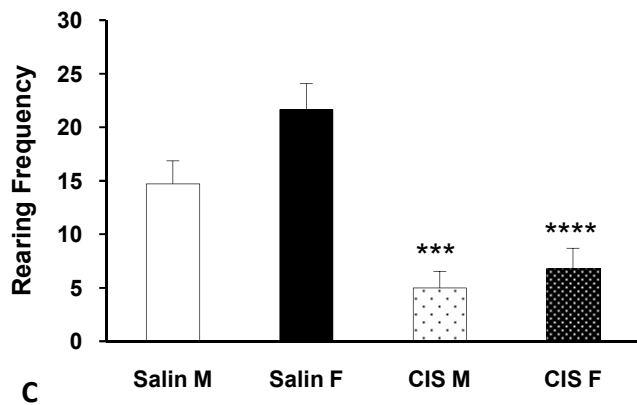
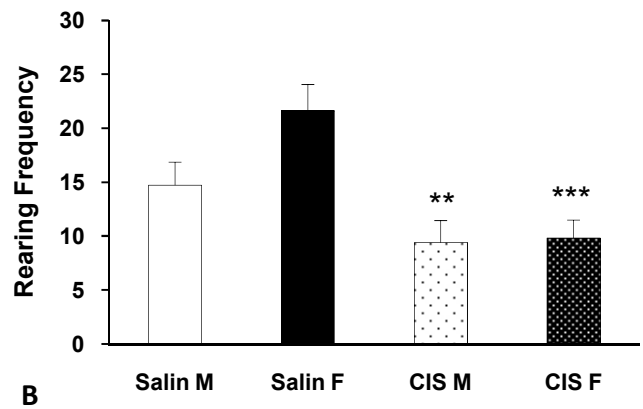
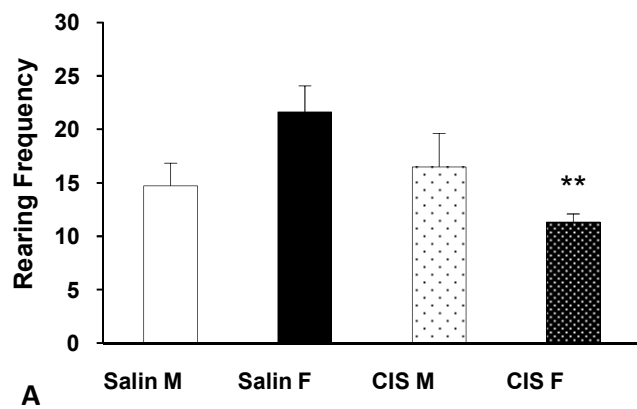
داده‌های بدست آمده از این تحقیق در ابتدا با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov (K-S test) در نرم افزار



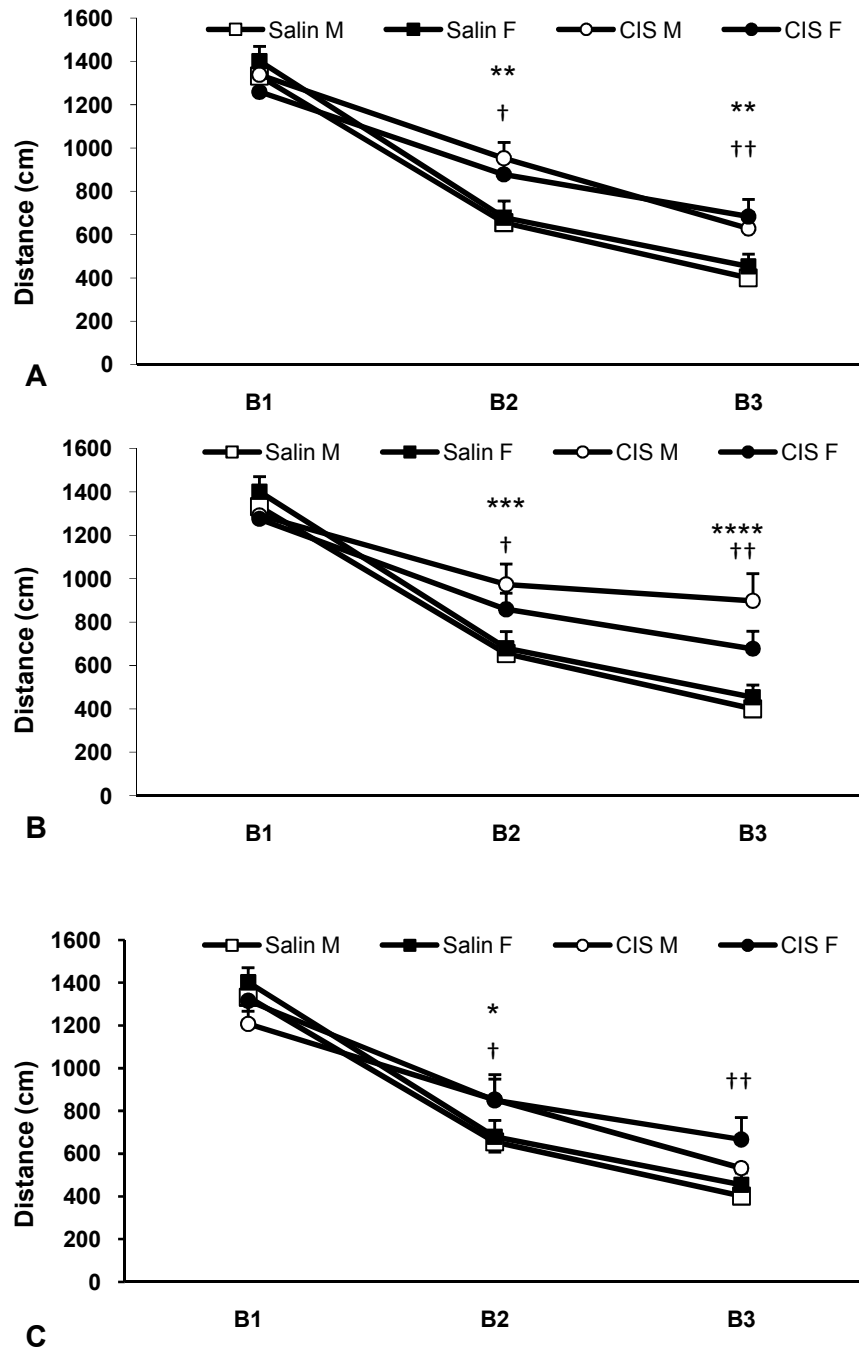
شکل ۱- مقایسه میانگین مدت زمان ماندن بر روی میله گرد پس از سه بار آزمایش با استفاده از آزمون روتارد به مدت ۵ دقیقه در هر بار آزمایش در گروه های مورد مطالعه، دوزهای ۵، ۱۰، ۱۵ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن به ترتیب در شکل‌های A, B, C

, *, * به ترتیب تفاوت معنی داری با گروه کنترل $p < 0.0001$, $p < 0.001$, $p < 0.05$

+ : تفاوت معنی دار گروه سیس پلاتین ماده با گروه سیس پلاتین نر $P < 0.05$.
(سالین نر: Saline M، سالین ماده: Saline F، سیس پلاتین نر: Cisplatin M، سیس پلاتین ماده: Cisplatin F)



شکل ۲- مقایسه تعداد Rearing در دوزهای متفاوت سیس پلاتین ۵، ۱۰، ۱۵ به ترتیب در شکل‌های A, B, C (سالین نر: Saline M، سالین ماده: Saline F، سیس پلاتین نر: Cisplatin M، سیس پلاتین ماده: Cisplatin F)
, *, ** به ترتیب نشان دهنده تفاوت معنی داری با گروه کنترل با $P < 0.0001$, $P < 0.001$, $P < 0.01$

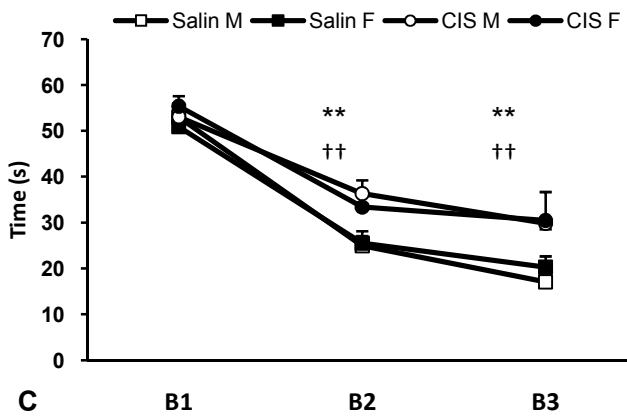
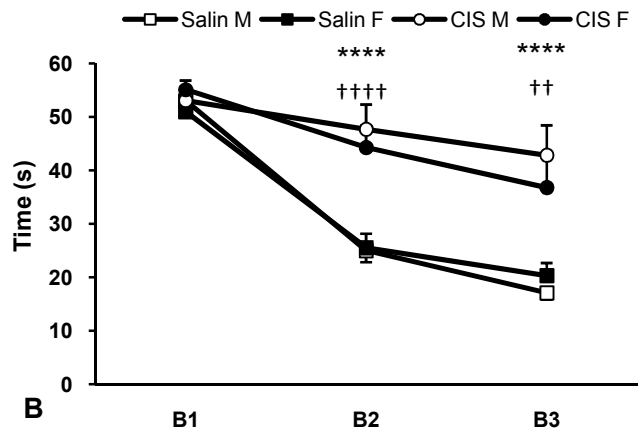
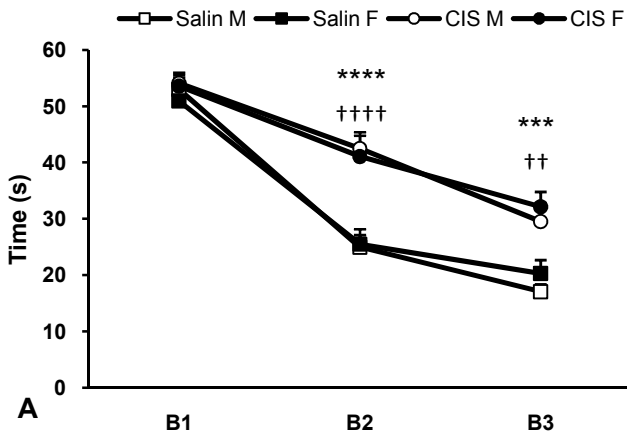


شکل ۴- مقایسه میزان مسافت پیموده شده تا یافتن سکوی هدف در گروه های مورد مطالعه، دوزهای ۵، ۱۰، ۱۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن، به ترتیب در شکل های A, B, C.

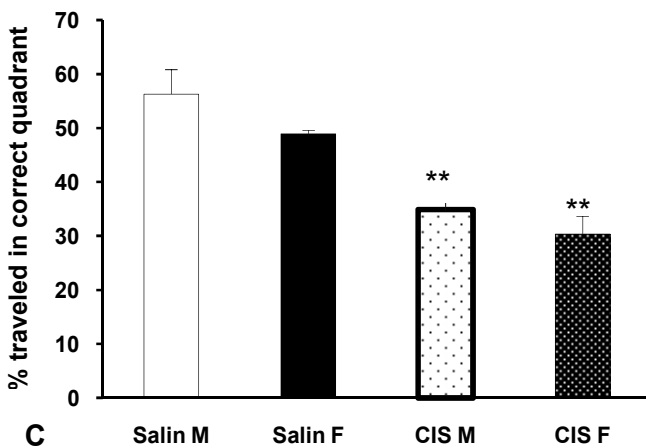
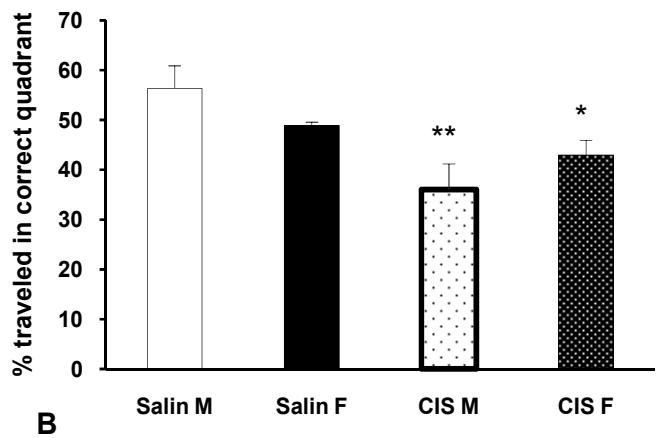
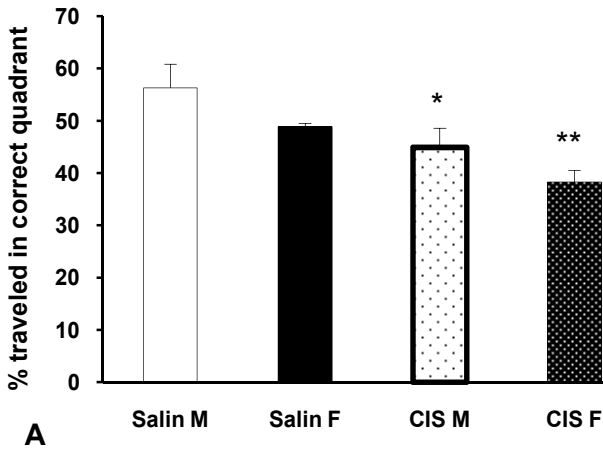
***, **, * : به ترتیب نشان از تفاوت معنی دار گروه سیس پلاتین نر با کنترل با $P < 0.001$, $P < 0.01$, $P < 0.05$ (سالین نر: Saline M، سالین ماده: Saline F، سیس پلاتین نر: Cisplatin M، سیس پلاتین ماده: Cisplatin F)
 ++++, ++, + : به ترتیب نشان از تفاوت معنی دار گروه سیس پلاتین ماده با کنترل با $P < 0.01$, $P < 0.05$

مشاهده نشد. در بررسی پارامتر درصد مسافت پیموده شده در ربع دایره هدف، حیوانات نر ($P < 0.05$) و ماده ($P < 0.01$) تحت تیمار سیس پلاتین با دوز 5mg/kg کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل نشان دادند (شکل ۶-A).

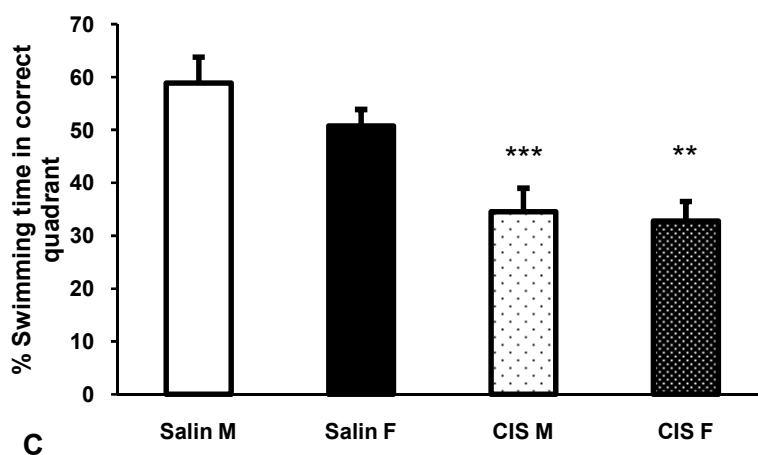
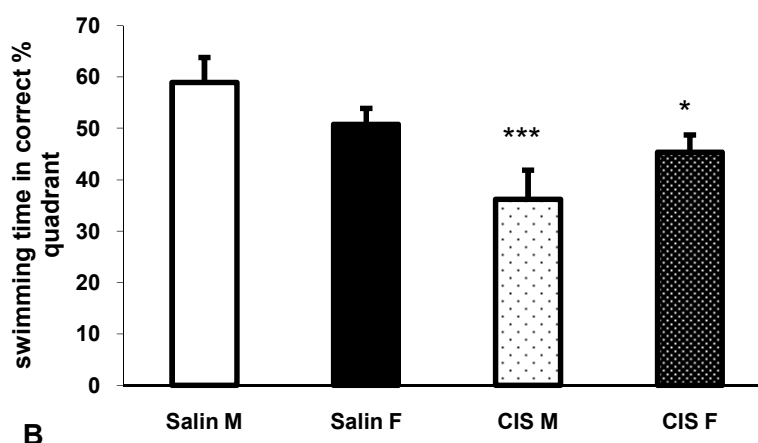
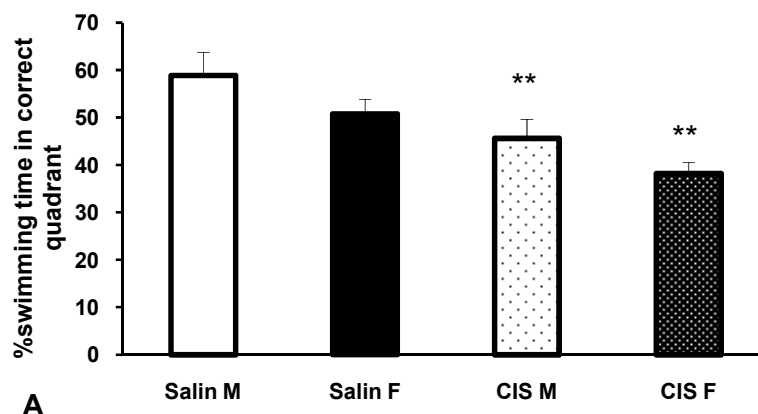
گروه کنترل در بلوک ۲ و ۳ افزایش معنی داری مشاهده شد. (گروه نر $P < 0.01$ و گروه ماده $P < 0.01$) در حالی که در بلوک ۱ در هیچ یک از گروه ها اختلاف معنی داری مشاهده نشد. در ارزیابی مقایسه سرعت شنا کردن در آزمون فراخوانی حافظه، بین گروه های مورد آزمایش اختلاف معنی داری



شکل ۵- مقایسه مدت زمان سپری شده برای یافتن سکوی هدف در گروه های مورد مطالعه ، دوزهای ۵،۱۰، ۱۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن، به ترتیب در شکل های A, B, C
 ترتیب به ترتیب نشان از تفاوت معنی دار گروه سیس پلاتین نر با کنترل با ****, ***, ** : P<0.0001, P<0.001, P<0.01 (سالین نر: Saline M، سالین ماده: Saline F، سیس پلاتین نر: Cisplatin M، سیس پلاتین ماده: Cisplatin F)
 به ترتیب نشان از تفاوت معنی دار گروه سیس پلاتین ماده با کنترل با ****, ++, ++: P<0.0001, P<0.01



شکل ۶- مقایسه درصد مسافت پیموده شده تا یافتن سکوی هدف در گروه های مورد مطالعه، دوزهای ۵،۱۰، ۱۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن، به ترتیب در شکل های A, B, C
 ترتیب به ترتیب نشان از تفاوت معنی دار با گروه کنترل با **, * : P<0.01, P<0.05 (سالین نر: Saline M، سالین ماده: Saline F، سیس پلاتین نر: Cisplatin M، سیس پلاتین ماده: Cisplatin F)



شکل ۷- مقایسه بررسی درصد زمانی حضور در ربع دایره هدف در گروه های مورد مطالعه، دوزهای ۱۰، ۵، ۱۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن، به ترتیب در شکل‌های A,B,C

***, **, * : به ترتیب نشان از تفاوت معنی دار با گروه کنترل با P<0.05, P<0.01, P<0.001 (سالین نر: Saline M، سالین ماده: Saline F، سیس پلاتین نر: Cisplatin M، سیس پلاتین ماده: Cisplatin F)

ماده تحت تیمار سیس پلاتین نسبت به گروه‌های کنترل بیانگر کاهش معنی داری به یک میزان در پارامتر درصد مسافت طی شده در ربع هدف است ($P<0.01$).

مقایسه درصد زمانی حضور در ربع دایره هدف بین هر دو گروه نر و ماده دریافت کننده سیس پلاتین با دوز ۵، ۱۰، ۱۵

مقایسه نتایج مسافت پیموده شده در گروه های نر و ماده تحت تیمار سیس پلاتین با دوز 10mg/kg (شکل ۶-B) نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری مشاهده شد (نر $P<0.01$ و ماده $P<0.05$). نتایج حاصل از دریافت سیس پلاتین با دوز 15mg/kg (شکل ۶-C) در مقایسه هر دو گروه حیوانات نر و

(شکل ۷- A,B,C) نسبت به گروه‌های کنترل حاکی از کاهش معنی داری است.

بحث

یافته‌های این تحقیق بیانگر این مطلب است که موش‌های نابالغی که تحت درمان سیس پلاتین قرار گرفتند، فعالیت‌های حرکتی و فعالیت‌های جستجوگرانه مربوط به مخچه آنها تحت تأثیر داروی سیس پلاتین قرار گرفت. در ارزیابی تعادل حرکتی با استفاده از میله‌گردان، در گروه تحت درمان سیس با دوز ۵،۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، کاهش معنی داری در مدت زمان ماندن بر روی میله گردان در هر سه دوز نسبت به گروه کنترل مشاهده شد. در مطالعه‌ای Cavazza و همکارانش (۲۰۱۰) نشان دادند که موش‌های بالغی که در معرض سیس پلاتین بودند قادر نبودند زمانی طولانی شبیه موش‌های کنترل روی میله گردان بمانند [۸]. در مطالعه‌ای Boyle و همکاران (۱۹۹۹) نشان دادند که تجویز سیس پلاتین باعث اختلال تعادل حرکتی در موش‌ها می‌شود و شدت این نقص را با بالا رفتن دوز گزارش نمودند [۵]. یافته‌های ما در راستای نتایج Callizot (۲۰۰۸) است که مصرف سیس پلاتین با دوزهای متفاوت و بالا می‌تواند باعث کاهش مدت زمان ماندن بر روی میله گردان در آزمون روتارود شود [۶].

در بررسی حاضر در آزمون جعبه باز در هفته چهارم پس از تولد حیوانات نر و ماده دریافت کننده سیس پلاتین در تعداد بلند شدن بر روی دو پا، کل مسافتی که حیوان در منطقه مرکزی و محیطی طی کرده بود (TDM) و متوسط سرعت حرکت کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل نشان داد، اما در مدت زمانی که حیوان در منطقه مرکزی و محیطی سپری کرد، Mobility و immobility تفاوت معنی داری مشاهده نشد.

نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر به جهت کاهش فعالیت‌های حرکتی خود به خودی و رفتار جستجوگر حیوانات نر با نتایج Auroux و همکارانش (۱۹۸۸) هم خوانی دارد و نشان می‌دهد مصرف داروهای شیمی‌درمانی باعث کاهش این پارامترها می‌گردد [۲]. در مطالعه‌ای که توسط Yang و همکاران (۲۰۰۹) انجام شد در پارامترهای مسافت طی شده،

Mobility و immobility تفاوت معنی داری مشاهده نشد [۴۲]. در مطالعه‌ای دیگر Reiriz و همکاران (۲۰۰۶) گزارش دادند که مواد شیمی‌درمانی بر روی اعمال وابسته به رفتار در جعبه باز تأثیر نمی‌گذارد و این داروها باعث تغییر در حرکت و فعالیت‌های خود به خودی و اضطراب حیوانات نمی‌شود [۳۰]. آنچه مسلم است مخچه در هماهنگی حرکتی، تعادل و یادگیری مهارت‌های حرکتی دخیل است و می‌تواند یکی از مناطق مغزی باشد که بسیار به داروهای ضد سرطانی حساس است. مخچه مدلی مناسب برای مطالعه تأثیر عوامل بیرونی در فرایندهای زود هنگام سلول و تمایز بافت‌های سیستم عصبی مرکزی است. ترکیبات پلاتینیوم در اثر واکنش با DNA منجر به مسمومیت سلولی می‌شوند [۲۶]. سیس پلاتین منجر به آسیب سلولی در میتوکندری، متوقف شدن چرخه سلولی در فاز G2، مهار فعالیت ATPase، تغییر در سیستم حمل و نقل سلولی و در نهایت باعث آپوپتوز، التهاب، نکروز و مرگ در سلول می‌شود [۱]. برخی یافته‌ها نشان داده‌اند که سلول‌های ناکارآمد در بازسازی DNA، حساسیت بیشتری به سیس پلاتین داشته و مرگ سلولی القاء شده به وسیله سیس پلاتین را پشتیبانی و تقویت می‌کنند. به عبارت دیگر سیس پلاتین اثر ضد توموری خود را از طریق آسیب‌های DNA میانجی‌گری می‌کند [۱۱].

یافته‌های این تحقیق مدارک جدیدی را بیان کرد: از جمله اینکه موش‌های نابالغی که در معرض ترکیب ضدسرطانی داروی سیس پلاتین قرار گرفته‌اند فعالیت‌های حرکتی و جستجوگرانه مربوط به مخچه آنها تحت تأثیر این دارو قرار می‌گیرد. برخی مطالعات نشان داده‌اند که مصرف سیس پلاتین تغییراتی در تکثیر نورونهای لایه گرانولار مخچه و مهاجرت سلول‌ها ایجاد می‌کند [۴، ۲۹] و باعث تغییر در بیان گیرنده‌های گلوتامات و گابا می‌گردد [۲۸]. سلول‌های پورکنز به عنوان تنها خروجی کورتکس مخچه و هماهنگ کننده حرکتی، در زمان درمان با سیس پلاتین دچار اختلال می‌شوند. سیس پلاتین باعث تغییر در مرحله نهایی تمایز سلول‌های پورکنز، رشد و نمو دندریتها و حذف سیناپسهای فیبرهای بالارونده و موازی می‌گردد [۳، ۲۷]. کاهش و تغییر در گیرنده‌های گلوتامات و فعالیت ایمن سازی GAD به وسیله بی سو (۲۰۰۳) گزارش شد که ممکن است عاملی برای انحطاط و مرگ یک بخشی از

شیمی درمانی در مسافت طی شده بر ای رسیدن به سکوی هدف در بلوک ۲ و ۳ گزارش کردند [۲۰]. در ارزیابی پارامتر سرعت شنا تا یافتن سکوی هدف بین گروه های تحت درمان با سیس پلاتین و کنترل اختلاف معنی داری مشاهده نشد.

در بررسی حاضر در آزمون مازآبی موربیس در هفته چهارم پس از تولد حیوانات نر و ماده تحت تیمار سیس پلاتین با دوزهای ۱۰ و ۱۵ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن در مقایسه با گروه های کنترل در پارامترهای مسافت پیموده شده در ربع دایره هدف و درصد زمان حضور در ربع هدف کاهش معنی داری را نشان دادند. یافته های ما در راستای نتایج Seigers و همکاران (۲۰۰۲) است که نقص در یادگیری و حافظه فضایی را بیان کردند و در پارامتر درصد زمانی سپری شده در ربع هدف اختلاف معنی داری بین گروه تحت درمان و کنترل مشاهده کردند. این نتیجه با مطالعات Eijkenboom و Van Der (۱۹۹۹) هم سو است [۱۳]. در خصوص پارامتر مسافت پیموده شده توسط حیوانات تحت درمان برای یافتن سکو نتایج گروه Seigers با این تحقیق هم خوانی ندارد [۳۴]. در مطالعه ای که توسط Li و همکاران (۲۰۰۸) انجام شد در آزمون ماز آبی موربیس، در پارامترهای درصد مدت زمان سپری شده در ربع دایره هدف کاهش معنی داری در گروه تحت درمان نسبت به گروه کنترل مشاهده شد و در بلوک ۳ و ۲ نیز در پارامتر مدت زمان رسیدن به هدف نیز این اختلاف معنی دار وجود داشت [۲۱].

هیپوکامپ هدف بالقوه ای برای تأثیرات زیان بار شیمی-درمانی از جمله سیس پلاتین می باشد. داروهای ضد سرطانی آسیب های زیادی را در کورتکس، تالاموس، هیپوکامپ سلول ایجاد می کنند [۳۲]. هیپوکامپ به علت داشتن نورونهایی که سلول های مکانی نامیده می شوند و همچنین سلول های آمیگدال نقش پراهمیتی را در یادگیری و حافظه فضایی و همچنین حافظه احترازی غیر فعال ایفا می کند اگرچه به تازگی قشر میانی مغز واقع در جلوی استخوان پیشانی نیز به عنوان یک بخش برجسته و کلیدی برای این مهم شناخته شده است [۲۱، ۱۴]. رزشکی (۲۰۰۴) گزارش داد که داروهای ضد سرطانی دارای ویژگی های نوروتوکسیک در محیط کشت هستند [۳۲]. تحقیقات بالینی در مورد بیماران سرطانی نشان داده است که شیمی درمانی با متوتراکسات باعث اختلال در

جمعیت سلول های پورکنز باشد [۲۸، ۳۳]. سیس پلاتین از طریق ارتباط متقابل و اتصال به DNA و با دخالت در مکانیسم سلولی باعث مرگ سلولی شده و تأثیرات خود را به جا می گذارد [۲۲، ۴۳]. همچنین سیس پلاتین می تواند منجر به مرگ سلولی در محیط کشت نورونهای گرانولار مخچه شده و در ریخت شناسی و پیامدهای مولکولی در رشد مخچه موش نوزاد اختلال ایجاد کند [۳۱، ۴۱].

در تأثیر مصرف سیس پلاتین بر حافظه و یادگیری احترازی غیر فعال مطالعات اخیر نشان داده است که استفاده از مواد شیمی درمانی مانند سیس پلاتین با اختلال در حافظه و یادگیری همراه است [۳۰]. در این مطالعه استفاده از سیس پلاتین با دوزهای ۵، ۱۰ و ۱۵ باعث کاهش به خاطر آوری حافظه (STL) شد که می تواند دال بر اختلال در روند به خاطر آوری حافظه در اثر مصرف سیس پلاتین باشد. Soug و همکاران (۲۰۱۰) هم سو با مطالعات ما گزارش کردند که سیس پلاتین باعث کاهش STL می شود [۳۹]. یافته های ما در راستای نتایج Yang و همکاران (۲۰۰۹) که نقص در به خاطر آوری را پس از تزریق سیس پلاتین گزارش کردند، می باشد [۴۲]. در مطالعه ای دیگر Ritize و همکاران (۲۰۰۶) کاهش در زمان ورود به منطقه تاریکی پس از یادگیری را در گروه تحت درمان با سیس پلاتین نسبت به گروه کنترل مشاهده نمودند [۳۰]. در مطالعه ما اختلاف معنی داری بین گروه نر و ماده دریافت کننده سیس پلاتین مشاهده نشد که حاکی از آن است که مصرف سیس پلاتین در جنس نر و ماده تأثیر یکسانی روی حافظه دارد.

در هیچ یک از گروه ها در بلوک ۱ اختلاف معنی داری مشاهده نشد و این امر حاکی از این است که در ابتدای آزمون حیوانات در شرایط یکسانی قرار داشتند اما روند یادگیری در بلوک های بعدی نشان داد که گروه های تحت درمان سیس پلاتین نسبت به گروه کنترل از توانایی یادگیری کمتری برخوردار هستند.

در مطالعه ای Seigers و همکاران (۲۰۰۸) نشان دادند که موش هایی که در معرض مواد شیمی درمانی بودند مدت زمان طولانی تری را در بلوک های ۳ و ۲ برای رسیدن به هدف سپری کردند [۳۵]. در مطالعه ای دیگر Lee و همکاران (۲۰۰۶) کاهش حافظه فضایی را در موش های تحت درمان با مواد

دو گروه نر و ماده از موش‌های صحرایی باعث کاهش فعالیت‌های حرکتی، حافظه اخترازی غیر فعال و حافظه فضایی شود، اما تفاوت قابل توجهی بین دو جنس مشاهده نگردید. بنابراین نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که مسمومیت نوروئی ناشی از مصرف سیس‌پلاتین در اوایل دوران جوانی که دوره خاصی از رشد سیستم عصبی می‌باشد در هر دو جنس یکسان عمل می‌کند و باعث اختلال در حافظه، فعالیت حرکتی و رفتارهای مربوط به مخچه و هیپوکامپ در موش‌های صحرایی نر و ماده می‌شود.

سیاسگزاری

هزینه انجام تحقیق حاضر توسط مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی کرمان تأمین گردیده که بدین وسیله نویسندگان مراتب قدردانی خود را از مسئولین این مرکز اعلام می‌دارند.

تکثیر سلول‌های هیپوکامپ شده و همچنین منجر به القاء آپتوز و استرس اکسیداتیو در سلول‌های پیش ساز عصبی می‌گردد، این گروه مشاهده کردند که سیس پلاتین اثرات مشابهی را با متوتراکسات دارد که از جمله اثرات آن کاهش تقسیم سلولی در ناحیه شکنج دنداندار و غلاف میلین برای تولید جسم سلولی الیگو دندریتها و آسیب‌های اکسیداتیو در مغز و نورونهای قشر مغز می‌باشد. در نتیجه تغییر در روند تکثیر سلولی منجر به کاهش نورون‌های عصبی می‌گردد. همچنین این دارو باعث تغییر در غلظت گلوتامات شده و اتصالات سیناپسی را محدود می‌کند که همه آنها منجر به وقفه در متابولیسم انرژی میتوکندریال می‌گردد [۱۹، ۳۴]. جی یانگ گزارش کرد عامل شیمی‌درمانی در موش‌ها عملکرد هیپوکامپ که شامل یادگیری و حافظه می‌باشد را تغییر می‌دهد که این کار از طریق سرکوب نورونها صورت می‌گیرد [۴۲].

نتایج تحقیق حاضر در مجموع نشان داد که مصرف سیس-پلاتین بخصوص دوزهای متوسط و بالای آن می‌تواند در هر

References

- [1] Ali BH, and AL Moundhri MS, Agents Ameliorating or Augmenting the Nephrotoxicity of Cisplatin and Other Platinum Compounds: A Review of Some Recent Research. *Food chem toxicol* 44 (2006) 1173-1183.
- [2] Auroux MR, Dulioust EJ, Nawar NNY, Yacoub SG, Mayaux MJ, Schwartz D, David G, Antimitotic Drugs in the Male Rat. Behavioral Abnormalities in the Second Generation. *J androl* 9 (1988) 153.
- [3] Avella D, Pisu MB, Roda E, Gravati M, Bernocchi G, Reorganization of the Rat Cerebellar Cortex During Postnatal Development Following Cisplatin Treatment. *Exp neurol* 201 (2006) 131-143.
- [4] Bottone MG, Soldani C, Veneroni P, Avella D, Pisu M, Bernocchi G, Cell Proliferation, Apoptosis and Mitochondrial Damage in Rat B50 Neuronal Cells after Cisplatin Treatment. *Cell Proliferat* 41 (2008) 506-520.
- [5] Boyle FM, Wheeler HR, Shenfield GM, Amelioration of Experimental Cisplatin and Paclitaxel Neuropathy with Glutamate. *J neuro-oncol* 41 (1999) 107-116.
- [6] Callizot N, Andriambelison E, Glass J, Revel M, Ferro P, Cirillo R, Vitte PA, Dreano M, Interleukin-6 Protects against Paclitaxel, Cisplatin and Vincristine-Induced Neuropathies without Impairing Chemotherapeutic Activity. *Cancer chemoth pharm* 62 (2008) 995-1007.
- [7] Cavaletti G, Fabbri D, Minoia C, Frattola L, Tredici G, Carboplatin Toxic Effects on the Peripheral Nervous System of the Rat. *Ann Oncol* 9 (1998) 443-448.
- [8] Cavazza C, Antioxidant Composition Comprising Acetyl L-Carnitine and Alpha-Lipoic Acid. *EP Patent* 1 (2010) 112.
- [9] Cerri S, Piccolini VM, Santin G, Bottone MG, De Pascali SA, Migoni D, Iadarola P, Fanizzi FP, Bernocchi G, The Developmental Neurotoxicity Study of Platinum Compounds. Effects of Cisplatin Versus a Novel Pt (II) Complex on Rat Cerebellum. *Neurotoxicol teratolo* 33 (2011) 273-281.
- [10] Correa DD, Ahles TA, Neurocognitive Changes in Cancer Survivors. *The Cancer J* 14 (2008) 396-400.
- [11] Cullen KJ, Yang Z, Schumaker L, Guo Z, Mitochondria as a Critical Target of the Chemotherapeutic Agent Cisplatin in Head and Neck Cancer. *J bioenerg biomembr* 39 (2007) 43-50.

- [12] Dursun I, Jakubowska-Dogru E, Uzbay T, Effects of Prenatal Exposure to Alcohol on Activity, Anxiety, Motor Coordination, and Memory in Young Adult Wistar Rats. *Pharmacol Biochem Be* 85 (2006) 345-355.
- [13] Eijkenboom M and Van Der Staay FJ, Spatial Learning Deficits in Rats after Injection of Vincristine into the Dorsal Hippocampus. *Neuroscience* 91 (1999) 1299-1313.
- [14] Frankl PW and Ding HK, Takahashi E, Suzuki A, Kida S, Silva AJ, Stability of Recent and Remote Contextual Fear Memory. *Learn Memory* 13 (2006) 451-457.
- [15] Frick KM, Stillner ET, Berger-Sweeney J, Mice Are Not Little Rats: Species Differences in a One-Day Water Maze Task. *Neuroreport* 11 (2000) 3461-5.
- [16] Garew TJ, Behavioral Neurobiology. Behavioral Neurobiology: The Cellular Organization of Natural Behavior. *Sinauer Associates* (2000) 375-413.
- [17] Gibbs RB, Gabor R, Cox T, Johnson DA, Effects of Raloxifene and Estradiol on Hippocampal Acetylcholine Release and Spatial Learning in the Rat. *Psychoneuroendocrino* 29 (2004) 741-748.
- [18] Hayakawa K, Itoh T, Niwa H, Yamamoto M, Liang Y, Doyu M, Sobue G, Nerve Growth Factor Prevention of Aged-Rat Sympathetic Neuron Injury by Cisplatin, Vincristine and Taxol-in Vitro Explant Study. *Neurosci lett* 274 (1999) 103-106.
- [19] Kebieche M, Lakroun Z, Lahouel M, Bouayed J, Meraihi Z, Soulimani R, Evaluation of Epirubicin-Induced Acute Oxidative Stress Toxicity in Rat Liver Cells and Mitochondria, and the Prevention of Toxicity through Quercetin Administration. *Exp Toxicol Pathol* 61 (2009) 161-167.
- [20] Lee GD, Longo DL, Wang Y, Rifkind JM, Abdul-Raman L, Mameczar JA, Duffy KB, Spangler EL, Taub DD, Mattson MP, Transient Improvement in Cognitive Function and Synaptic Plasticity in Rats Following Cancer Chemotherapy. *Clin Cancer Res* 12 (2006) 198-205.
- [21] Li CQ, Liu D, Huang L, Wang H, Zhang JY, Luo XG, Cytosine Arabinoside Treatment Impairs the Remote Spatial Memory Function and Induces Dendritic Retraction in the Anterior Cingulate Cortex of Rats. *Brain Res Bull* 77 (2008) 237-240.
- [22] Li XB and HJ Schluesener, Therapeutic Effects of Cisplatin on Rat Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *Arch immunol ther ex* 54 (2006) 51-53.
- [23] Longstaff A. Neuroscience, First Published, Biddies Ltd, www.amazon.co.uk, *Guild Ford Press* (2000) 375-399.
- [24] Malik NM, Moore GBT, Smith G, Liu YL, Sanger GJ, Andrews PLR, Behavioural and Hypothalamic Molecular Effects of the Anti-Cancer Agent Cisplatin in the Rat: A Model of Chemotherapy-Related Malaise? *Pharmacol Biochem Be* 83 (2006) 9-20.
- [25] Mereu G, Fà M, Ferraro L, Cagiano R, Antonelli T, Tattoli M, Ghiglieri V, Tanganelli S, Gessa GL, Cuomo V, Prenatal Exposure to a Cannabinoid Agonist Produces Memory Deficits Linked to Dysfunction in Hippocampal Long-Term Potentiation and Glutamate Release. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100 (2003) 4915-20.
- [26] Miller RP, Tadagavadi RK, Ramesh G, WB Reeves, Mechanisms of Cisplatin Nephrotoxicity. *Toxins* 2 (2010) 2490-2518.
- [27] Pisu MB, Guioli S, Conforti E, Bernocchi G, Signal Molecules and Receptors in the Differential Development of Cerebellum Lobules. Acute Effects of Cisplatin on Nitric Oxide and Glutamate Systems in Purkinje Cell Population. *Brain Res Dev Brain Res* 145 (2003) 229-240.
- [28] Pisu MB, E Roda, S Guioli, D Avella, MG Bottone, G Bernocchi, Proliferation and Migration of Granule Cells in the Developing Rat Cerebellum: Cisplatin Effects. *The Anatomical Record Part A: Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology* 287 (2005) 1226-1235.
- [29] Pisu MB, E Roda, D Avella, G Bernocchi, Developmental Plasticity of Rat Cerebellar Cortex after Cisplatin Injury: Inhibitory Synapses and Differentiating Purkinje Neurons. *Neuroscience* 129 (2004) 655-664.
- [30] Reiriz AB, Reolon GK, Preissler T, Rosado JO, Henriques JAP, Roesler R, Schwartzmann G, Cancer Chemotherapy and Cognitive Function in Rodent Models: Memory Impairment Induced by Cyclophosphamide in Mice. *Clin Cancer Res* 12 (2006) 5000-5001.
- [31] Roda E, Avella D, Pisu MB, Bernocchi G, Monoamine Receptors and Immature Cerebellum Cytoarchitecture after Cisplatin Injury. *J Chem Neuroanat* 33 (2007) 42-

- 52.
- [32] Rzeski W, Pruskil S, Macke A, Felderhoff-Mueser U, Reiher AKHoerster F, Jansma C, Jarosz B, Stefovskaja V and Bittigau P, Anticancer Agents Are Potent Neurotoxins in Vitro and in Vivo. *Ann Neurol* 56 (2004) 351-360.
- [33] Scherini E and Bernocchi G, Cisddp Treatment and Development of the Rat Cerebellum. *Prog Neurobiol* 42 (1994) 161-196.
- [34] Seigers R, Schagen SB, Coppens CM, van der Most PJ, van Dam FS, Koolhaas JM and Buwalda B, Methotrexate Decreases Hippocampal Cell Proliferation and Induces Memory Deficits in Rats. *Behav Brain Res* 201 (2009) 279-284.
- [35] Seigers R, Schagen SB, Beerling W, Boogerd W, van Tellingena O., van Dam FS, Koolhaas JM, Buwalda B, Longlasting suppression of hippocampal cell proliferation and impaired cognitive performance by methotrexate in the rat. *Behav Brain Res* 2 (2008) 168-175.
- [36] Shabani M, Haghani M, Sheibani V and Janahmadi M, Changes in Motor and Learning Behaviors of Rats Prenatally Exposed to Win 55212-2, a Cannabinoid Receptor Agonist. *Physiol Pharmacol* 13 (2009) 120-129.
- [37] Shabani M, Hosseinmardi N, Haghani M, Shaibani V and Janahmadi M, Maternal Exposure to the Cb1 Cannabinoid Agonist Win 55212-2 Produces Robust Changes in Motor Function and Intrinsic Electrophysiological Properties of Cerebellar Purkinje Neurons in Rat Offspring. *Neuroscience* 172 (2011) 139-152.
- [38] Shabani M, Larizadeh MH, Parsania S, Asadi Shekaari M, Shahrokhi N, Profound Destructive Effects of Adolescent Exposure to Vincristine Accompanied with Some Sex Differences in Motor and Memory Performance. *Can J Physiol Pharmacol* 90 (2012) 379-386.
- [39] Song TY, Chen CL, Liao JW, Ou HC, Tsai MS, Ergothioneine Protects against Neuronal Injury Induced by Cisplatin Both in Vitro and in Vivo. *Food Chem Toxicol* 48 (2010) 3492-3499.
- [40] Van Der Stelt M, Mazzola C, Esposito G, Matias I, Petrosino S, Filippis DD, Micale V, Steardo L, Drago F, Luvone T, Endocannabinoids and B-Amyloid-Induced Neurotoxicity in Vivo: Effect of Pharmacological Elevation of Endocannabinoid Levels. *Cell Mol Life Sci* 63 (2006) 1410-1424.
- [41] Wick A, Wick W, Hirrlinger J, Gerhardt E, Dringen R, Dichgans J, Weller M, Schulz JB, Chemotherapy-Induced Cell Death in Primary Cerebellar Granule Neurons but Not in Astrocytes: In Vitro Paradigm of Differential Neurotoxicity. *J Neurochem* 91 (2004) 1067-1074.
- [42] Yang MKim JS, Song MS, Kim SH, Kang SS, Bae CS, Kim JC, Wang H, Shin T, Moon C, Cyclophosphamide Impairs Hippocampus-Dependent Learning and Memory in Adult Mice: Possible Involvement of Hippocampal Neurogenesis in Chemotherapy-Induced Memory Deficits. *Neurobiol Learn Mem* 93 (2010) 487-494.
- [43] Zwelling LA, Kohn KW, Mechanism of Action of Cis-Dichlorodiammineplatinum (II). *Cancer Treat Rep* 63 (1979) 1439-44.