مقاله پژوهشی

اثر تزریق درون هیپوکمپی استرادیول بر حافظه فضایی در رت‌های نر بالغ مبتلا به بیماری مولتیپل اسکلروزیس

وحیده زرین[۱]، حمیرا حاتمی[۱*]، علیرضا علی همتی[۲]

۱- گروه زیست شناسی جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
۲- گروه تشریح و بافت شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۱۲/۱۸ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۰۵/۰۵

چکیده

زمینه و هدف: بیماری مولتیپل اسکلروزیس (MS) نوعی بیماری دمیلینه کننده سیستم اعصاب مرکزی است که در زنان ۲ تا ۳ برابر شایع تر از مردان است. پیشنهاد شده این بیماری توسط هورمون‌های جنسی متاثر می‌گردد. بیش از نیمی از بیماران MS نقایص شناختی شامل اختلالات حافظه و یادگیری دارند. استروژن نیز بر روی بسیاری از فرآیندهای مغزی از جمله حافظه و یادگیری اثر دارد. با توجه به درگیری هورمون استروژن بر فرآیند حافظه و یادگیری، هدف مطالعه حاضر بررسی اثرات حفاظت عصبی استروژن طی بیماری مولتیپل اسکلروزیس می‌باشد.

مواد و روش‌ها: ۲۸ سر رت نر پس از کانول‌گذاری در ناحیه CA1 هیپوکمپ به طور تصادفی به ۴ گروه ۷ تایی تقسیم شدند: گروه کنترل، گروه شاهد (روغن کنجد، µl/rat ۱)، گروه MS (اتیدیوم بروماید۰/۰۱٪، µl/rat ۳)، گروه MS + استرادیول (اتیدیوم بروماید + استرادیول بنزوات، µl ۱/µg ۲). ایجاد مدل MS با تزریق داخل هیپوکمپی اتیدیوم بروماید صورت گرفت و استرادیول بنزوات به صورت پیش تیمار و به مدت ۵ روز تزریق گردید. جهت ارزیابی یادگیری و حافظه فضایی از آزمون ماز آبی موریس استفاده گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با روش آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی Tukey صورت گرفت.

نتایج: تزریق اتیدیوم بروماید سبب کاهش حافظه فضایی گردید ($P<0/05$). پیش تیمار استرادیول بنزوات با دوز ۲ میکروگرم به طور معنی‌داری حافظه فضایی را طی بیماری MS بهبود بخشید ($P<0/05$).

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد استرادیول بنزوات به دلیل اثرات حفاظت کننده عصبی، حافظه فضایی کاهش یافته طی بیماری MS را بهبود می‌بخشد.

کلمات کلیدی: **استرادیول، تزریق داخل هیپوکمپی، مولتیپل اسکلروزیس، حافظه فضایی، رت**

مقدمه

مولتیپل اسکلروزیس (MS) یک بیماری دمیلینه کننده التهابی و مزمن سیستم اعصاب مرکزی است که به عنوان یک بیماری خود ایمن شناخته شده است (۱). همانند دیگر بیماری‌های خودایمن شیوع MS در زنان تقریبا ۲ تا ۳ برابر بیشتر از مردان است و در افرادی که از نظر ژنتیکی مستعد هستند بروز می‌کند (۲). مکانیسم‌های پاتوژنتیک بیماری به طور کامل شناخته شده نیست اما فعال شدن محیطی سلول‌های TCD4+ بازفعال خودی[۱] که پروتئین‌های غلاف میلین نورون‌ها را هدف‌گیری می‌نمایند به عنوان فرآیند کلیدی در ایجاد بیماری فرض شده است (۳). همچنین دخالت عوامل محیطی، ایمنی و به ویژه سیتوکین‌ها و بعضی از ویروس‌ها ذکر شده‌اند (۴).

یکی از نشانه‌های بالینی نسبتاً شایع بیماری MS اختلالات شناختی است. تحقیقات نوروسایکولوژیکی در دو دهه گذشته نشان داده‌اند که MS منجر به زوال عملکرد شناختی در ۳۰ تا

*نویسنده مسئول: حمیرا حاتمی، گروه زیست شناسی جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. تلفن: ۰۴۱۱-۳۳۹۲۷۴۰
Email: homeirahatami@yahoo.com

۱ – Autoreactive CD4+T cells

۷۰ درصد بیماران می‌گردد (۵). شایع ترین نقایص شناختی در بیماران مبتلا به MS، کاهش سرعت پردازش اطلاعات و کاهش حافظه به ویژه حافظه تصویری-فضایی می‌باشد (۶). یادگیری فضایی نوعی یادگیری لحظه‌ای است که در این نوع یادگیری لوب گیجگاهی میانی، هیپوکمپ و نواحی از قشر جلوی پیشانی دخالت دارد. در سال‌های اخیر مشخص شده که درون هیپوکامپ دسته‌ای از نورون‌ها وجود دارند که نسبت به موقعیت حیوان در فضا، الگوی آتش کردن[۲] خاصی را نشان می‌دهند. این سلول‌ها که به وفور در هیپوکامپ یافت می‌شوند، سلول‌های مکانی[۳] نامیده می‌شوند (۷). شواهد کلینیکی نشان می‌دهند که حاملگی یک اثر حفاظتی بر شدت بیماری MS دارد و در این بیماری شدت حملات در حین حاملگی به ویژه در سه ماهه آخر (که سطوح بالایی از هورمون‌های جنسی وجود دارد) کاهش می‌یابد (۸). بروز متفاوت MS در بین افراد مونث و مذکر و اثر حفاظتی حاملگی بر شدت بیماری پیشنهاد می‌کند که هورمون‌های جنسی بر روند بیماری MS تاثیرگذار بوده و مدارکی وجود دارد که استروژن دارای اثر مهاری بر روی بیماری MS می‌باشد.

همچنین به خوبی مشخص است که نقش هورمون‌های جنسی به تنظیم رفتار تولیدمثلی محدود نمی‌شود و نتایج مطالعات ۲۰ سال گذشته پیشنهاد می‌کند که استروژن بر عملکردهای شناختی متفاوتی از جمله حافظه و یادگیری اثر می‌گذارد (۹). مغز یک اندام هدف مهم برای استروژن است و گیرنده‌های استروژن در جوندگان، انسان و نخستیان غیر انسانی در نواحی مختلف مغزی مثل هیپوکمپ، آمیگدال و قشر مغز که در فرآیند حافظه و یادگیری دخیل هستند، یافت شده‌اند (۱۰). مشاهدات کلینیکی نشان می‌دهند که درمان استروژن در زنان سالم پس از سن یائسگی حافظه فضایی کاری (۱۱)، حافظه شیئی (۱۲) و حافظه زبانی را بهبود می‌بخشد (۱۱). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که تیمار استرادیول در موش‌های ماده فاقد تخمدان حافظه فضایی مرجع را در ماز آبی موریس (۱۳) و حافظه غیرفضایی را در تست-های اجتنابی و تشخیصی اشیاء (۱۴) بهبود می‌بخشد. در رت‌های ماده، استرادیول حافظه فضایی کاری را در ماز T و ماز آبی بهبود می بخشد (۱۵). همچنین گزارش شده است که در رت‌های نر نیز استرادیول سبب بهبود حافظه فضایی می‌گردد (۱۶).

لذا تمام مطالعات اثر افزایش دهنده استروژن بر حافظه را گزارش نکرده‌اند. دانیل و همکاران در سال ۲۰۰۷ گزارش داده‌اند که استروژن هم به صورت درون‌زا و هم به صورت برون‌زا حافظه مرجع را تخریب می‌نماید یا این که اثری بر روی حافظه ندارد (۱۷). همچنین در مطالعه دیگری نشان داده شده است که درمان استروژن به تنهایی یا همراه یک فرم صناعی پروژسترون، خطر نقص‌های شناختی را در زنان پس از یائسگی افزایش می‌دهد (۱۸).

بنابراین با توجه به گزارشات متعدد و بعضاً متناقض در مورد اثرات استروژن بر یادگیری و حافظه و نیز با توجه به درگیری هورمون-های جنسی بر روند بیماری MS، هدف مطالعه حاضر بررسی نقش حفاظتی استروژن بر کاهش حافظه فضایی طی بیماری MS می-باشد؛ لذا در این کار پژوهشی اثر تزریق داخل هیپوکمپی استرادیول بنزوات بر یادگیری و حافظه فضایی در رت‌های مبتلا به MS و با استفاده از دستگاه ماز آبی موریس مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

۲۸ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم (تهیه شده از دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز) مورد استفاده قرار گرفتند. محل نگهداری حیوانات دارای دوره روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعته و دمای ۲±۲۳ درجه سانتی گراد بود و آب و غذا به اندازه کافی در اختیار آن‌ها قرار داشت. نگهداری حیوانات آزمایشگاهی مطابق با راهنمای انستیتوی ملی سلامت انجام شد.

برای انجام عمل جراحی و کانول‌گذاری، حیوانات به وسیله تزریق داخل صفاقی کتامین (۱۰۰ mg/kg) و زایلازین (۵mg/kg) (۱۹) بیهوش شده و در دستگاه استریوتاکسی (Stoeleting USA) در موقعیت جمجمه مسطح قرار گرفتند. کانول‌های به کار رفته از سر سوزن‌های شماره ۲۲ ساخته شده و به صورت دو طرفه در ناحیه

[2]- Firing
[3]- Place Cells

CA1 هیپوکمپ قرار گرفتند. مختصات مورد استفاده طبق اطلس واتسون و پاکسینوس عبارتند از: AP= -۳/۸ mm از برگما، ML= ±۲/۲ mm از خط وسط و DV= -۲/۷mm از سطح جمجمه (۲۰).

یک هفته پس از جراحی و طی دوره بهبودی، تزریق دارو آغاز گردید. تزریق درون هیپوکمپ از طریق سرسوزن شماره ۲۷ و توسط یک لوله پلی اتیلنی که به سرنگ همیلتون ۱۰ میکرولیتری متصل شده بود، انجام گرفت. هر تزریق به آرامی و با سرعت ۱ میکرولیتر در دقیقه صورت گرفت.

برای انجام آزمایش‌ها ابتدا حیوانات به طور تصادفی در گروه‌های ۷ تایی تقسیم شدند: گروه کنترل هیچ تیماری دریافت نکردند و به مدت ۵ روز به وسیله ماز آبی موریس مورد آزمایش قرار گرفتند. گروه شاهد که ۱ µl روغن کنجد خالص به عنوان حلال استرادیول بنزوات و به مدت ۵ روز دریافت نمودند. گروه MS که ۳ µl اتیدیوم بروماید ۰/۰۱٪ و به صورت تک دوز دریافت نمودند. گروهMS + تیمار استرادیول که ۱ µl ۲µg/۱ استرادیول بنزوات (Sigma) (۲۱) و به مدت ۵ روز دریافت کردند و نیم ساعت پس از آخرین تزریق استرادیول بنزوات اتیدیوم بروماید تزریق گردید. دمیلیناسیون و ایجاد مدل MS با تزریق داخل هیپوکمپی اتیدیوم بروماید صورت گرفت.

جهت ارزیابی یادگیری و حافظه فضایی از ماز آبی موریس استفاده شد. دستگاه ماز آبی موریس از یک حوضچه استوانه‌ای شکل سیاه رنگ با قطر ۱۳۶ و ارتفاع ۶۰ سانتی متر تشکیل شده که تا ارتفاع ۲۵ سانتی متری از آب ۱±۲۰ درجه سانتی گراد پر شده است. یک سکوی کوچک از جنس فلز سیاه رنگ با قطر ۱۰ سانتی متر، یک سانتی متر زیر سطح آب به طور ثابت و به صورت قراردادی در مرکز ربع دایره جنوب غربی قرار دارد. آزمایشات در اتاق نسبتاً تاریکی انجام می‌گیرد که علائم قابل رویتی در ۴ طرف آن نصب شده است و حیوان می‌تواند با استفاده از این علائم موقعیت سکوی پنهان را پیدا کند. یک دوربین فیلمبرداری به طور مستقیم در بالای حوضچه نصب شده بود که مسیر شنای هر حیوان را فیلمبرداری می‌کرد. زمان پیدا کردن سکو، مسافت طی شده برای یافتن سکو و سرعت حیوان در حین شنا به کمک سیستم کامپیوتری و نرم افزار MazeRouter ثبت می‌گردید. یک هفته پس از اتمام دوره تیمار، هر موش به مدت ۵ روز و هر روز یک نوبت (هر نوبت شامل ۴ تجربه) از ۴ ربع حوضچه به طور تصادفی تحت آزمایش قرار می‌گرفت. یک تجربه زمانی به اتمام می‌رسید که موش بر روی سکو رفته یا ۶۰ ثانیه گذشته باشد. سپس ۱۵ ثانیه به حیوان فرصت داده می‌شد و پس از آن تجربه بعدی شروع می‌گردید.

پس از اتمام آزمایشات رفتاری، برای تعیین محل کانول، حیوانات به وسیله اتر بیهوش شده و مغز آن‌ها خارج گردید. پس از ثابت شدن مغزها در فرمالین ۱۰٪ به وسیله دستگاه میکروتوم برش‌های ۱۰۰ میکرومتری از مغز تهیه شد و به وسیله کرزیل ویوله رنگ آمیزی شدند تا مکان قرارگیری کانول‌ها مشخص شود.

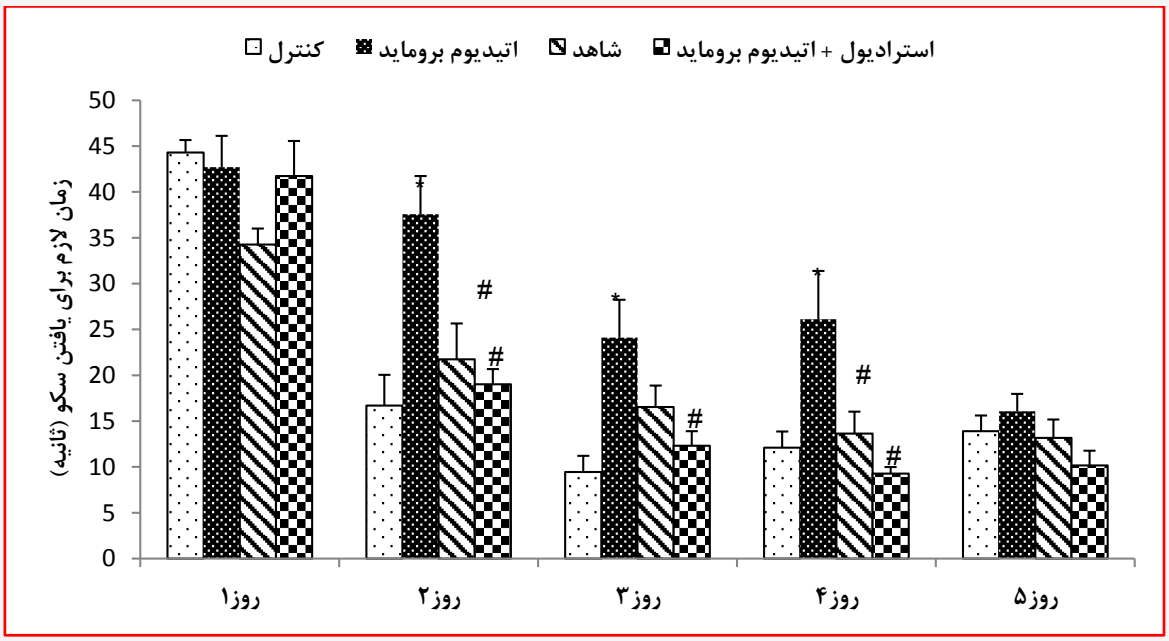
نتایج حاصل به صورت میانگین±خطای استاندارد میانگین ارائه گردید. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون تعقیبی Tukey و به وسیله نرم افزار SPSS 16 صورت گرفت و P<۰/۰۵ به عنوان معیار معنی‌دار بودن اختلاف در نظر گرفته شد.

نتایج

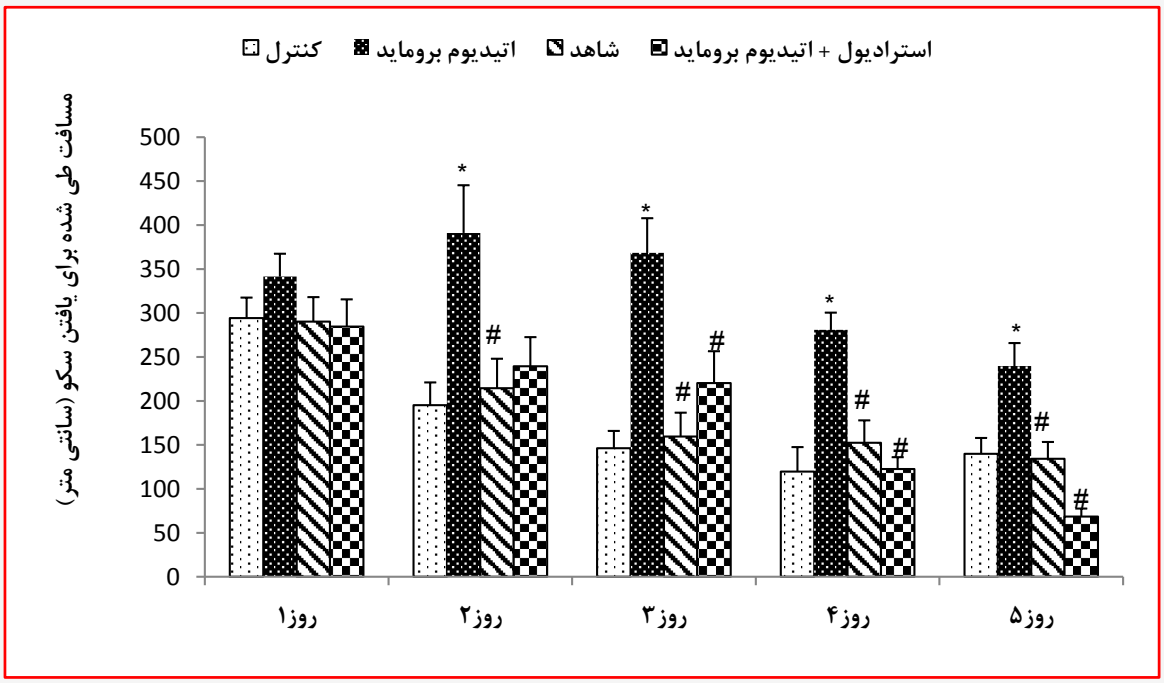
مقایسه نتایج به دست آمده در طی ۵ روز آزمایش نشان داد که بین گروه دریافت کننده اتیدیوم بروماید و گروه کنترل افزایش معنی‌داری (P<۰/۰۵) در زمان لازم برای یافتن سکو در روزهای دوم، سوم و چهارم وجود دارد (نمودار ۱) و مسافت طی شده برای یافتن سکو نیز در تمام روزها به غیر از روز اول به طور معنی داری افزایش یافته است (P<۰/۰۵) (نمودار۲).

مقایسه عملکرد گروه دریافت کننده استرادیول بنزوات با دوز ۲ µg/۱µl و گروه دریافت کننده اتیدیوم بروماید نشان داد زمان لازم برای یافتن سکو در روزهای دوم، سوم و چهارم به طور معنی-داری کاهش یافته است (P<۰/۰۵) (نمودار ۱). همچنین مسافت طی شده برای یافتن سکو در روزهای سوم، چهارم و پنجم کاهش معنی‌داری نشان داد (P<۰/۰۵) (نمودار ۲).

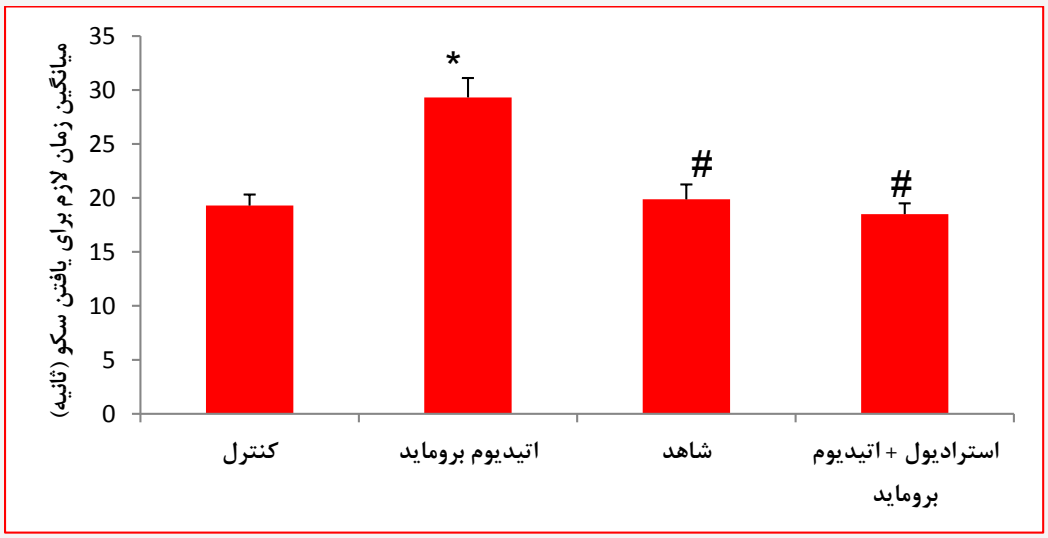
مقایسه میانگین زمان سپری شده (نمودار ۳) و مسافت طی شده (نمودار ۴) بین گروه‌های مورد مطالعه با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون Tukey، اختلاف معنی‌داری بین گروه کنترل، شاهد و گروه دریافت کننده استرادیول بنزوات (۱ µl ۲ µg/۱) با هم، نشان نداد در حالی که بین این گروه‌ها و گروه دریافت کننده اتیدیوم بروماید اختلاف معنی‌داری وجود داشت (P<۰/۰۵).



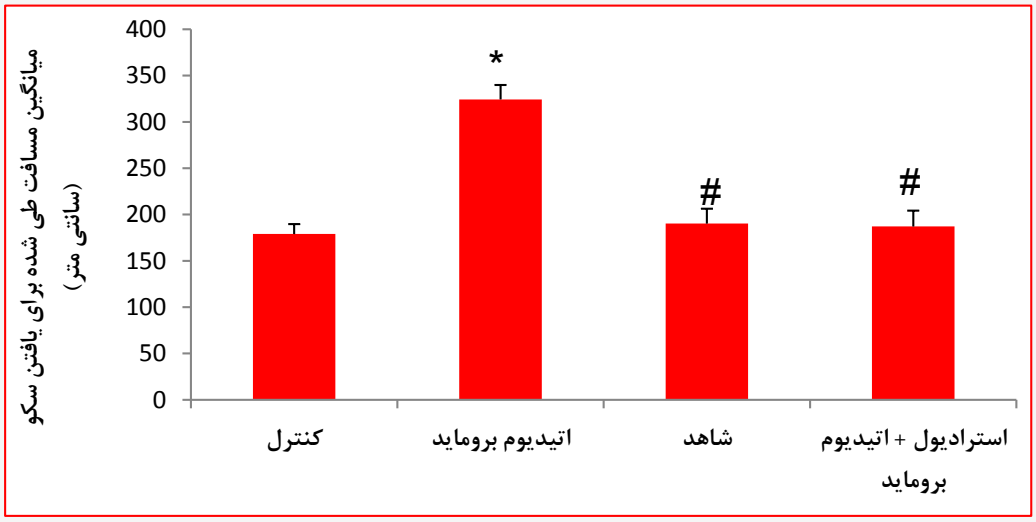
نمودار ۱: مقایسه مدت زمان لازم برای یافتن سکو طی روزهای آزمایش بین گروه‌های مختلف. نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد بیان شده و P<۰/۰۵ به عنوان معیار معنی‌دار بودن اختلاف در نظر گرفته شده است. در تمامی روزهای آزمایش گروه‌هایی که با علامت *(P<۰/۰۵) مشخص شده‌اند، دارای اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل در همان روز بوده و گروه‌هایی که با علامت #(P<۰/۰۵) مشخص شده‌اند، دارای اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه دریافت کننده اتیدیوم بروماید (MS) در همان روز می‌باشند (n=۷).



نمودار ۲: مقایسه مسافت طی شده برای یافتن سکو طی روزهای آزمایش بین گروه‌های مختلف. نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد بیان شده و P<۰/۰۵ به عنوان معیار معنی‌دار بودن اختلاف در نظر گرفته شده است. در تمامی روزهای آزمایش گروه‌هایی که با علامت *(P<۰/۰۵) مشخص شده‌اند، دارای اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل در همان روز بوده و گروه‌هایی که با علامت #(P<۰/۰۵) مشخص شده‌اند، دارای اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه دریافت کننده اتیدیوم بروماید (MS) در همان روز می‌باشند (n=۷).



نمودار ۳: مقایسه میانگین زمان لازم برای یافتن سکو در طی ۵ روز آزمایش بین گروه‌های مختلف. نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد بیان شده و P<۰/۰۵ به عنوان معیار معنی‌دار بودن اختلاف در نظر گرفته شده است. * (P<۰/۰۵) نشان دهنده اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل و # (P<۰/۰۵) نشان دهنده اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه دریافت کننده اتیدیوم بروماید (MS) می‌باشد (n=۷).

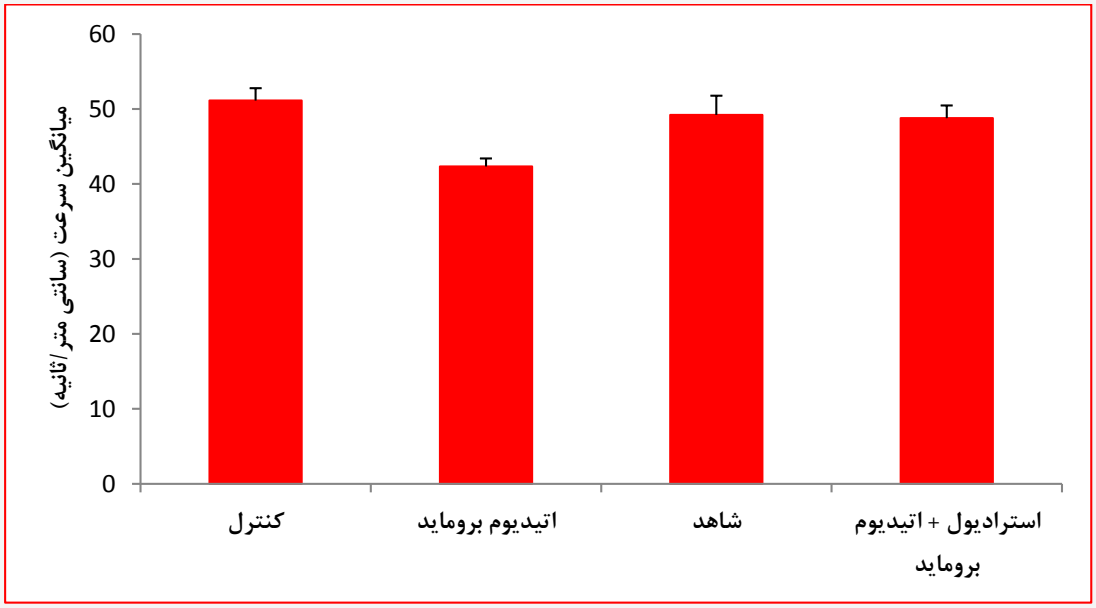


نمودار ۴: مقایسه میانگین مسافت طی شده برای یافتن سکو در طی ۵ روز آزمایش بین گروه‌های مختلف. نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد بیان شده و P<۰/۰۵ به عنوان معیار معنی‌دار بودن اختلاف در نظر گرفته شده است. *(P<۰/۰۵) نشان دهنده اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل و #(P<۰/۰۵) نشان دهنده اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه دریافت کننده اتیدیوم بروماید (MS) می‌باشد (n=۷).

همچنین تغییر معنی‌داری در میانگین سرعت شنای حیوانات در هیچ یک از گروه‌های مورد مطالعه مشاهده نشد و این مسئله نشان دهنده این است که داروی تزریق شده بر فعالیت حرکتی اثری نداشته است (نمودار ۵).

بحث و نتیجه گیری

در این کار پژوهشی اثر پیش‌تیمار استرادیول بنزوات بر فرآیند حافظه فضایی رت‌های نر قبل از تزریق داخل هیپوکمپی اتیدیوم بروماید و القاء MS با روش ماز آبی موریس مورد مطالعه و بررسی



نمودار ۵: مقایسه میانگین سرعت شنای حیوانات در طی ۵ روز آزمایش بین گروه‌های مختلف. نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد بیان شده است. بین هیچ یک از گروه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (n=۷).

قرار گرفت تا اثر بهبود دهندگی استروژن بر حافظه مورد بررسی قرار گیرد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که در گروه دریافت کننده اتیدیوم بروماید زمان و مسافت یافتن سکو در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. این نتایج پیشنهاد می‌کنند که تزریق داخل هیپوکمپی اتیدیوم بروماید می‌تواند سبب تخریب یادگیری و حافظه فضایی گردد.

اتیدیوم بروماید با تغییر دادن DNA میتوکندریایی منجر به تنفس غیرنرمال و نکروزیس شده و سبب تخریب میلین می‌شود. در راستای نتایج ما لوینز و رینولدز[4] در سال ۱۹۹۹ و همچنین مازانتی و همکاران در سال ۲۰۰۷ با استفاده از اتیدیوم بروماید دمیلینه شدن موضعی (یک مدل تجربی تخریب میلین سیستم عصبی مرکزی) را در رت‌های نژاد ویستار القاء کردند (۲۲). آزمایشات مشابهی نیز توسط لوینز و رینولدز در سال ۱۹۹۹ با استفاده از روش فوق انجام گرفت و تاثیر اتیدیوم بروماید را در تخریب میلین نشان دادند (۲۲ و ۲۳). تحقیق دیگری نشان داده است که ریزتزریق اتیدیوم بروماید با دوز ۰/۱٪ سبب افزایش استرس اکسیداتیو در بافت مغز می‌گردد (۲۴). بنابراین اتیدیوم بروماید به عنوان یک عامل ایجاد استرس اکسیداتیو سبب مرگ سلول‌های مغزی و اختلال در حافظه می‌گردد. مطالعات متعددی اثر عوامل اکسیداتیو را به شکل تخریب و تضعیف حافظه نشان داده‌اند (۲۵) و با نتایج مطالعه ما که نشان دهنده اثر اتیدیوم بروماید بر کاهش حافظه فضایی می‌باشد همخوانی دارد.

همچنین نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که پیش‌تیمار استرادیول بنزوات، کاهش حافظه فضایی ناشی از تزریق موضعی اتیدیوم بروماید را بهبود می‌بخشد. تزریق کوتاه مدت استرادیول بنزوات به ناحیه هیپوکمپ مسافت و زمان سپری شده برای یافتن سکو را به طور معنی‌داری کاهش داد.

این نتایج نیز گزارش‌های متعدد مبنی بر اثر بهبود دهنده استرادیول بر فرآیند حافظه را تایید می‌کند. مطالعات بالینی اخیر نشان داده‌اند که درمان جایگزینی استروژن به طور معنی‌داری حافظه زبانی را افزایش می‌دهد و از اختلال در حافظه فضایی و بیماری آلزایمر در زنان پس از یائسگی جلوگیری می‌کند (۲۶).

[4]- Levines & Reinolds

همچنین سو و همکاران ثابت کردند که به کارگیری استرادیول پس از آموزش می‌تواند به طور معنی‌داری تثبیت حافظه فضایی را در ماز آبی موریس در رت‌های ماده فاقد تخمدان بهبود بخشد (۲۷). هورواث و همکاران اثرات ۱۷-بتا استرادیول را بر روی حافظه و یادگیری فعال و غیرفعال موش‌های ماده فاقد تخمدان مورد بررسی قرار داده و بیان کردند یادگیری فعال به طور مشخص سریع‌تر اتفاق افتاده است (۲۸). در همین راستا معاضدی و همکاران در سال ۲۰۱۱ اثر مثبت استرادیول را بر حافظه احترازی غیرفعال در موش‌های نر مدل تجربی بیماری آلزایمر گزارش کردند (۲۸). تمامی این مطالعات در راستای تحقیق حاضر بوده و نتایج به دست آمده در این تحقیق را تایید می‌کنند.

اثر بر عملکرد شناختی می‌تواند به وسیله نقش تعدیل کننده استروژن بر استیل کولین که یک نوروترانسمیتر اصلی در تنظیم فرآیندهای حافظه و یادگیری است توضیح داده شود (۲۹). گزارش شده است که تیمار استرادیول فعالیت و بیان استیل کولین ترانسفراز را در قاعده مغز جلویی و نواحی ارسالی آن به CA1 هیپوکمپ و قشر پیشانی افزایش داده و باعث افزایش رهایی استیل کولین در هیپوکمپ می‌شود (۳۰). به علاوه، استروژن علاوه بر افزایش سیستم کولینرژیک با افزایش سیستم گلوتاماترژیک فرآیندهای حافظه را بهبود می‌بخشد و همچنین نقش تعدیل کننده بر چندین سیستم انتقال عصبی دیگر مثل کاتکول آمینرژیک، سروتونرژیک (۳۱) و گاباارژیک (۳۲) هم در حیوانات و هم در انسان‌ها ایفا می‌کند.

علاوه بر این درمان با مقادیر بالای استرادیول منجر به اختلال در عملکرد فضایی در ماز آبی موریس می‌شود (۳۳). مرادپور و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان دادند که تزریق درون هیپوکمپی استرادیول والرات با دوز ۱۵ µg/۰/۰۵ µl باعث تخریب حافظه و یادگیری در ماز آبی موریس می‌گردد و همچنین بیان کردند که تستوسترون پس از تبدیل به استرادیول اثرات مخرب بر حافظه و یادگیری دارد (۳۴). نتایج این آزمایشات با یافته‌های ما تناقض دارد و این اختلاف در نتایج می‌تواند به علت تفاوت در زمان تزریق، نژاد حیوانات، دوز دارو و یا شرایط آزمایشگاه باشد.

در نتیجه، یافته‌های ما نشان می‌دهد که اتیدیوم بروماید با دوز ۳µl/rat، سبب کاهش حافظه فضایی در رت‌های نر می‌گردد. همچنین به نظر می‌رسد استرادیول، از طریق تداخل عمل با سیستم‌های کولینرژیک و نوروترانسمیترهای دیگر و همچنین با افزایش انعطاف‌پذیری سیناپسی باعث افزایش یادگیری و حافظه فضایی می‌گردد. ولیکن کشف مکانیسم‌های دقیق تاثیر هورمون بر عملکردهای شناختی نیاز به تحقیقات جامع‌تری دارد و از آنجایی که دوزهای بالای استرادیول اغلب سبب تخریب حافظه می‌گردد، پیشنهاد می‌شود که استرادیول با دوزهای پایین مورد استفاده قرار گیرد.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده اند.

References

1. Sospedra M, Martin R. Immunology of multiple sclerosis. Annu Rev Immunol. 2005; 23:683–747.
2. Hemmer B, Archelos JJ, Hartung HP. New concepts in the immunopathogenesis of multiple sclerosis. Nat Rev Neurosci. 2002; 3(4): 291-301
3. McFarland HF, Martin R. Multiple sclerosis: a complicated picture of autoimmunity. Nat Immunol. 2007; 8(9): 913-919
4. Lublin FD, Reingold SC. Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of and international study. Neurology. 1996; 46(4): 907-911.
5.Chiaravalloti ND, DeLuca J. Cognitive impairment in multiple sclerosis. Lancet Neurol. 2008;7(12): 1139-1151.
6. Chiaravalloti ND, Deluca J. Cognitive impairment in multiple sclerosis. Lancet Neurol.2008;7(12): 1139-1151.
7. Longstaff A.Neuroscience. First published. Biddies LTDL: Guild Ford Press; 2000.P: 375-399.
8. Yates MA, Li Y, Chlebeck P, Proctor T, Vandenbark AA, Offner H. Progestrerone treatment reduces disease severity and increases IL-10 in experimental autoimmune encephalomyelitis. J Neuroimmunol. 2010; 220(1-2): 136-139.
9. Luine VN. The prefrontal cortex, gonadal hormones and memory. Horm Behav. 2007; 51(2): 181-182.
10. Markou A, Duka T, Prelevic GM. Estrogens and brain function. Hormones (Athens). 2005; 4(1): 9-17.

11. Duff SJ, Hampson E. A beneficial effect of estrogen on working memory in postmenopausal women taking hormone replacement therapy. Horm Behav. 2000; 38(4): 262-76.
12. Duka T, Tasker R, McGowan JF. The effects of 3-weeke strogen hormone replacement on cognition in elderly healthy females. Psychopharmacology (Berlin). 2000; 149(2): 129-39.
13. Harburger LL, Bennett JC, Frick KM. Effects of estrogen and progesterone on spatial memoryConsolidation in aged females.Neurobiology of Aging. 2007; 28(4): 602-610.
14. Gresack JE, FrickK M. Environmental enrichment reduces the mnemonic and neurall benefits of estrogen. Neuroscience. 2004; 128(3): 459-71.
15. Sandstrom NJ, Williams CL. Spatialmemory retention is enhanced by acute and continuouse stradiol replacement. Horm Behav. 2004; 45(2): 128-35.
16. Hodosy J,Osatinkova D, Riljak V, Misliveck J, Celec P. The effect of rapid and depot testosterone and estradiol on spatial performance in water maze. Central European Journal of Biology. 2012; 7(4): 596-602.
17. Daniel JM, Lee CD. Estrogen replacement in ovariectomized rats strategy selection in the Morris Water maze. Neurobiol Learn Mem. 2004; 82(2): 142-149.
18. Shumaker SA, Legault C, Kuller L,Rapp SR, Thal L, Lane DS, et al. Conjugated equine estrogens and incidence of probable dementia And mild cognitive impairment in postmenopausal women: Women's Health Initiative Memory Study. JAMA. 2004; 291(24): 2947-58.
19. Harooni HE, Naghdi N, Sepehri H, Rohani AH. Intrahippocampal injection of impaired acquisition, consolidation and retrieval of inhibitory avoidance learning and memory in adult male rats. Behav Brain Res. 2008; 188(1): 71-77.[Article in Persian]
20. Paxinos G, Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates: Hard Cover Edition: Academic press; 2007.
21.Ordikhani Seydlar M, Babri Sh, Gholamipour Badie H, Ghandchilar N. Effects of intrahippocampal injection of 17-βestradiol on memory consolidation in the female ovariectomized rats. Pharmaceutical Sciences. 2007;1: 35-42. [Article in Persian]
22. Mazzanti C, Spanevello R, Ahmed M, Schmatz R, Mazzanti A, Salbego F, etal. Cyclosporine A inhibits acetylcholinesterase activity in rats experimentally demyelinated with ethidium bromide. Int J Devl Neuroscience. 2007; 25(4): 259-264.
23. Levine JM, Reynolds R. Activation and proliferation of endogenous oligodendrocyte precursor cells during ethidium bromide- induced demyelination. Experimental Neurology. 1999; 160(2): 333-347.
24. Abdel-Salam OME, Khadrawy YA, Salem NA, Sleem AA. Oxidative stress in a model of toxic demyelination in rat brain: the effect of piracetam and vinpocetine.Neurochemicalresearch. 2011; 36(6): 1062-1072.
25.Kim DY, Hao J, Liu R, Turner G, Shi F-D, Rho JM. Inflammation-Mediated Memory Dysfunction and Effects of a Ketogenic Diet in a Murine Model of Multiple Sclerosis. PLOS ONE. 2012; 7(5): e35476.
26.Craig MC, Murphy DGM. Alzheimer's disease in women. Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology. 2009; 23(1): 53-61.
27.Su J, Sripanidkulchai B, Sripanidkulchai K, Piyachaturawat P, Wara-aswapati N. Effect ofCurcuma comosaand estradiol on the spatial memory and hippocampal estrogen receptor in the post-training ovariectomized rats.J Nat Med. 2011; 65(1): 57-62.
28.Horvath KM,Hårtig W,Van der Veen R,Keijser JN, Mulder J,Ziegert M, et al. 17beta-estradiol enhances cortical cholinergic innervation andpreserves synaptic density following excitotoxic lesions to the ratnucleus basalis magnocellularis. Neuroscience. 2002; 110(3): 489-504.
29. Moazedi AA, Moosavi M, Chinipardaz R.The Effect of Estrogen on Passive Avoidence Memory in an Experimental Model of Alzheimer`s disease in Male Rats.Physiology and Pharmacology. 2011; 14 (4): 416-425. [Article in Persian]
30. Hasselmo ME. The role of acetylcholine in learning and memory. Curr Opin Neurobiol. 2006; 16(6): 710-715.
31. Pompili A, Arnone B, Gasbarri A. Estrogens and memory in physiological and neuropathological conditions. Psychoneuroendocrinology. 2012; 37(9): 1379–1396.
32. Amin Z, Gueorguieva R, Cappiello A, Czarkowski KA, Stiklus S, Anderson GM, et al. Estradiol and tryptophan depletion interact to modulate cognition in menopausal women. Neuropsychopharmacology. 2006; 31(11): 2489-2497.
33. Milner TA, McEwen BS, Hayashi S, Li CJ, Reagan LP, Alves SE. Ultrastructural evidence that hippocampal alpha estrogen receptors are located at extranuclear sites. J Comp Neurol. 2001; 429(3): 355-371.
34. Varga H, Nemeth H, Toth T, et al. Weak if any effect of estrogen on spatial memory in rats. Acta Biol Szeged. 2002; 46: 13-16.
34- Moradpour F, Naghdi N, Fathollahi Y. The effect of injection of estrogen in the hippocampal CA1 region on learning and spatial memory in adult male rats. Physiology and Pharmacology. 2009; 12(3): 159-169. [Article in Persian]

Original Article

A The Effect of Intra Hippocampal Injection of Estradiol on Spatial Memory in Male Adult Rats During Multiple Sclerosis Disease

Zarrin V[1], Hatami H[1*], Ali Hemmati AR[2]

1- Department of Animal Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran
2- Department of Anatomy and Histology, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

Received: 09 Mar 2014 Accepted: 27 Jul 2014

Abstract

Background & Objective: Multiple sclerosis (MS) is a demyelinating disease of central nervous system, which is approximately two to three times more common in women than men. It was suggested that sexual hormones affect MS disease. Over half of MS patients have cognitive deficits, including learning and memory dysfunction. Estrogen also influences most of the cerebral function including learning and memory. According to the involvement of estrogen on learning and memory process, the objective of this study is to investigate the neuroprotective effect of estrogen during MS disease.

Materials & Methods: 28 male rats after cannnulating into the CA1 area of hippocampus, randomly divided into four groups (n=7) including control group, sham group (sesame oil, 1 µl/rat), MS group (0.01% ethidium bromide, 3 µl/rat), MS + estradiol group (ethidium bromide + estradiol benzoate, 2 µg/1µl). MS model was induced by intra hippocampal injection of ethidium bromide and estradiol benzoate was injected as a pretreatment for five days. The Morris Water Maze test was used for studying spatial memory. Data analysis was performed using one-way ANOVA and Tukey test.

Results: Ethidium bromide reduced the spatial memory ($P<0.05$). Pretreatment of estradiol benzoate (2 µg/1µl) significantly improved spatial memory during MS disease ($P<0.05$).

Conclusion: It seems that estradiol benzoate improves the reduced spatial memory during MS disease due to its neuroprotective effects.

Keywords: **Estradiol, Intra hippocampal injection, Multiple sclerosis, Spatial memory, Rat**

***Corresponding author: Homeira Hatami**, Department Of Animal Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
Email: homeirahatami@yahoo.com
Tel: +984113392740