

مقاله پژوهشی

اثرات تزریق حاد کورتیکوسترون و پروژسترون بر به‌خاطر‌آوری حافظه اجتنابی در فازهای پرواستروس و دی‌استروس در موش صحرایی ماده

نیلوفر دربندی^۱، رضیه محمدخانی^{۱،۲}، عباسعلی وفایی^۲، علی رشیدی‌پور^{۲*}

۱. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه اراک، اراک

۲. مرکز تحقیقات و گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان

دریافت: ۲۱ اردیبهشت ۹۴

پذیرش: ۲۱ خرداد ۹۴

چکیده

زمینه و هدف: تزریق حاد کورتیکوسترون، به‌خاطر‌آوری حافظه را مختل می‌کند. از طرف دیگر، هورمون‌های جنسی زنانه نیز بر حافظه اثر می‌گذارند. در مطالعه حاضر اثر تزریق همزمان پروژسترون و کورتیکوسترون بر خاطر‌آوری حافظه در موش‌های صحرایی بالغ ماده در فازهای پرواستروس (زمانی که سطح استروژن و پروژسترون بالا است) و دی‌استروس (زمانی که سطح استروژن و پروژسترون پایین است) بررسی شد.

روش‌ها: موش‌های صحرایی ماده نژاد ویستار در مدل اخترازی غیرفعال، آموزش داده شدند (۱ میلی آمپر، ۳ ثانیه). دو روز بعد از آموزش، تاخیر در ورود به قسمت تاریک دستگاه و مدت زمان سپری شده در آن ثبت شد. در آزمایش‌های اول و دوم، به حیوانات فاز پرواستروس و دی‌استروس حامل یا کورتیکوسترون (۳ mg/kg) ۳۰ دقیقه قبل از تست به خاطر‌آوری به صورت داخل صفاقی تزریق شد. در آزمایش‌های سوم و چهارم به حیوانات فاز پرواستروس و دی‌استروس ۶۰ دقیقه قبل از تست، حامل یا پروژسترون (۵ mg/kg) و ۳۰ دقیقه قبل از تست، حامل یا کورتیکوسترون (۳ mg/kg) تزریق شد.

یافته‌ها: تزریق کورتیکوسترون (۳ mg/kg) به موش‌های ماده در فاز دی‌استروس به خاطر‌آوری حافظه را مختل نمود ولی تزریق آن در فاز پرواستروس اثری نداشت. تزریق پروژسترون (۵ mg/kg) قبل از کورتیکوسترون به موش‌های صحرایی ماده در هر کدام از فازها، تغییری در اثر کورتیکوسترون ایجاد نکرد. **نتیجه‌گیری:** کورتیکوسترون به‌خاطر‌آوری حافظه را در فاز دی‌استروس مختل می‌کند و این اثر توسط غلظت‌های فارماکولوژیک پروژسترون تغییری نمی‌کند.

واژه‌های کلیدی: به‌خاطر‌آوری حافظه، پروژسترون، سیکل استروس، کورتیکوسترون

مقدمه

حافظه فرآیندی است که طی آن مطالب فراگرفته شده به‌خاطر آورده می‌شود. از نظر فیزیولوژی، حافظه نتیجه تغییر در توانایی انتقال سیناپسی در نورون‌هاست که به نوبه‌ی خود موجب تولید مسیرهای جدید برای انتقال سیگنال‌ها از طریق

مدارهای عصبی مغز می‌گردد. تنظیم و تعدیل حافظه توسط عوامل عصبی و هورمونی از جمله گلوکوکورتیکوئیدها انجام می‌شود. گلوکوکورتیکوئیدها علاوه بر اثراتی که بر روی تنظیم قندخون، فشارخون و پاسخ‌های ایمنی دارند به دلیل دارا بودن خاصیت لیپوفیلی، قادر به‌گذر از سدخونی-مغزی بوده و بر ساختارهای مغزی متعدد از جمله هیپوکامپ، آمیگدال و سایر ساختارهای لیمبیک اثرگذارند. به این ترتیب، این هورمون‌ها بر عملکردهای عصبی و رفتاری از جمله حافظه موثر می‌باشند

* نویسنده مسئول مکاتبات: rashidy-pour@semums.ac.ir

وبگاه مجله: http://ijpp.phypha.ir

ijpp@phypha.ir

وبگاه مجله:

پست الکترونیکی:

[۱]. اثرات گلوکوکورتیکوئیدها بر حافظه، عمدتاً به فازهای مختلف حافظه بستگی دارد. شواهد نشان می‌دهد که گلوکوکورتیکوئیدها سبب بهبود و تثبیت حافظه می‌شوند، در حالی که تجویز آنها مدت کوتاهی قبل از تست به‌خاطر‌آوری، سبب اختلال در به‌خاطر‌آوری حافظه می‌گردد [۲].

افزایش گلوکوکورتیکوئیدهای خون با افزایش سریع در سطح آنها در هیپوکامپ همراه است که موجب افزایش سطح گلوتامات در فضای خارج سلولی می‌شود. به دنبال افزایش گلوتامات خارج سلولی، گیرنده‌های NMDA فعال شده که سبب آندوسیتوز گیرنده‌های AMPA شده و شکل پذیری سیناپسی مختل می‌شود [۱].

هورمون‌های جنسی زنانه (استروژن و پروژسترون) سبب تعدیل حافظه می‌شوند. این هورمون‌ها به گروه نورواستروئیدها تعلق داشته و می‌توانند در داخل سیستم عصبی مرکزی و محیطی نیز ساخته شوند. گیرنده‌های پروژسترون در مناطق مختلف مغزی از جمله هیپوتالاموس، قشر، مخچه و نورون‌های هرمی هیپوکامپ یافت می‌شوند [۳]. پروژسترون علاوه بر رشد و نمو رویان و آمادگی جهت جایگزینی، از آنجا که نوعی نورواستروئید است، بر عملکرد سیناپسی، محافظت عصبی و میلینه‌شدن نورون‌ها نیز موثر است. پروژسترون همچنین قادر است اثرات استرادیول را بر نورون‌زایی هیپوکامپ میانجی‌گری کند. البته دلایل زیادی نیز وجود دارد که نشان می‌دهد پروژسترون به تنهایی بر نورون‌زایی هیپوکامپی موثر است.

فعالیت محور هیپوتالاموس-هیپوفیز تحت تاثیر جنسیت و سیکل جنسی قرار دارد [۴]. در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی ماده در پاسخ به استرس، میزان کورتیکواسترون و ACTH افزایش بیشتری نشان می‌دهد همچنین مقدار پروتئین متصل شونده به کورتیکواسترون (Corticosteroid Binding Globulin)، در افراد ماده بیشتر از افراد نر می‌باشد [۵].

سیکل تولیدمثلی در جوندگان، کوتاه بوده و سیکل استروس نامیده می‌شود. در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی، این سیکل به ۴ مرحله پرواستروس، استروس، متاستروس و دی‌استروس تقسیم می‌شود. معمولاً از روش بافت‌شناسی واژن برای تعیین فازهای سیکل استروس استفاده می‌شود. تغییر در تعداد و نوع سلول‌های موجود در واژن نشان‌دهنده نوسان در سطح هورمون‌ها در طی سیکل استروس می‌باشد [۶]. انتقال

سیناپسی پایه در فازهای مختلف سیکل استروس متفاوت است [۷]. در مرحله پرواسترس سلول‌های اپیتلیالی هسته‌دار به صورت دسته‌ای یا منفرد غالب بوده و با فاز فولیکولی چرخه قاعدگی انسان قابل مقایسه است و میزان پروژسترون و استروژن بالا است [۸]. در مرحله استروس سلول‌های کورنی‌فاید غالب بوده و سطح استروژن کاهش می‌یابد [۶]. در مرحله متاستروس سلول‌های لکوسیت غالب بوده و با افزایش مداوم در سطح هورمون پروژسترون همزمان است. در مرحله دی‌استروس سلول‌های لکوسیت غالب هستند و تعداد کمی سلول‌های کورنی‌فاید و اپیتلیالی قابل تشخیص می‌باشند [۶]. در این مرحله غلظت پروژسترون کم است [۸] و تحلیل جسم زرد منجر به کاهش سریع سطح پروژسترون می‌شود [۶].

یائسگی در انسان نیز همانند برداشتن تخمدان منجر به کاهش سریع استروژن و پروژسترون می‌شود و احتمال ابتلا به بیماری آلزایمر در طول این مدت افزایش می‌یابد [۹]. اوارکتومی باعث اختلال در یادگیری و حافظه فضایی وابسته به هیپوکامپ شده و فاز اکتساب یادگیری فضایی را مختل می‌کند. همچنین به‌خاطر‌آوری حافظه به دنبال اوارکتومی، دچار اختلال می‌شود [۱۰].

در مطالعه اخیر ما نشان دادیم که اثرات کورتیکواسترون (به عنوان گلوکوکورتیکوئید اصلی در موش) بر به‌خاطر‌آوری حافظه اجتنابی در مراحل مختلف چرخه استروس توسط استروژن تعدیل می‌شود [۱۱]. در این مطالعه، اثرات کورتیکواسترون بر به‌خاطر‌آوری حافظه اجتنابی در موش‌های ماده سالم در فاز پرواستروس و دی‌استروس و اثرات تزریق غلظت خارجی پروژسترون بررسی شد.

مواد و روش‌ها

تعداد ۱۲۰ سر موش بزرگ آزمایشگاهی جنس ماده، بالغ نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۵۰-۲۰۰ گرم پرورش یافته در مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی سمنان مورد استفاده قرار گرفت. حیوانات در طول آزمایش در محیطی کنترل شده از نظر درجه حرارت (22 ± 2 درجه) و با شرایط مناسب از نظر نور، رطوبت و سیکل شبانه‌روزی منظم (۱۲ ساعت تاریکی، ۱۲ ساعت روشنایی) قرار داشتند. قبل از آزمون، حیوانات در قفس‌های ۱۰ تایی نگهداری شده و غذا و آب کافی نیز در اختیار داشتند. در طی انجام آزمایشات کلیه

بین دو محفظه (Number of crossing, NC) در مدت ۹ دقیقه تست یادداشت شد [۱۲].

فاز جنسی هر حیوان طبق مطالعه قبلی تعیین شد [۱۱]. به طور خلاصه، بلافاصله بعد از آزمون به‌خاطرآوری پاپ اسمیر از هر حیوان تهیه و سیکل جنسی تعیین گردید. در صورتیکه حیوان در فاز مورد نظر از سیکل جنسی قرار نداشت، داده حاصل حذف و آزمایش تکرار می‌شد. برای تهیه پاپ اسمیر جمع‌آوری سلول‌های واژن، ابتدا مقدار بسیار کمی آب مقطر دوبار تقطیر را به کمک قطره چکان و به آرامی به داخل واژن حیوان وارد نموده و با فشار دادن و رها کردن سرقطره چکان آب به داخل واژن وارد و خارج شد. حدود ۵ بار این کار، انجام گرفت. سپس مایع جمع‌آوری شده در قطره چکان روی لام ریخته شده و پس از خشک شدن نمونه در دمای اتاق مراحل رنگ‌آمیزی با کریستال ویولت انجام گرفت و به کمک میکروسکوپ نوری مطالعه شد. بر پایه حضور یا عدم حضور سلول‌های اپیتلیال، کورنی‌فاید و لکوسیت و نسبت هر یک در مقایسه باهم، فاز مورد نظر سیکل جنسی تشخیص داده شد [۱۱، ۱۲].

آزمایش‌های انجام شده در این پژوهش عبارت بودند از: ۱- بررسی اثر کورتیکوسترون بر به‌خاطرآوری حافظه ترس در موش‌های ماده سالم در فاز پرواستروس. در این آزمایش از دو گروه از موش‌های سالمی که در فاز پرواستروس بودند، استفاده شد. نیم ساعت قبل از تست به‌خاطرآوری، به یک گروه، حامل کورتیکوسترون و به گروه دیگر، دوز ۳ mg/kg کورتیکوسترون تزریق شد. ۲- تعیین اثر کورتیکوسترون بر به‌خاطرآوری حافظه ترس در موش‌های ماده سالم در فاز دی‌استروس. در این آزمایش از موش‌های سالمی که در فاز دی‌استروس بودند، استفاده شد. نیم ساعت قبل از تست به‌خاطرآوری، به یک گروه، حامل کورتیکوسترون و به گروه دیگر، دوز ۳ mg/kg کورتیکوسترون تزریق شد. ۳- بررسی اثرات تزریق پروژسترون بر اثرات کورتیکوسترون بر به‌خاطرآوری حافظه ترس در فاز پرواستروس. در این آزمایش موش‌های سالم فاز پرواستروس به ۴ گروه به شرح زیر تقسیم و تیمار شدند: حلال پروژسترون (الکل ۴ درصد) - حلال کورتیکوسترون (سرم فیزیولوژی)، حلال پروژسترون (الکل ۴ درصد) - کورتیکوسترون (۳ mg/kg)، پروژسترون (۳ mg/kg) - حلال کورتیکوسترون، و پروژسترون (۳ mg/kg) - کورتیکوسترون (۳ mg/kg). در همه گروه‌ها،

اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی مد نظر قرار گرفت. پودر کورتیکوسترون (نوع گونژوکه و محلول در آب) و پروژسترون (شرکت Sigma آلمان) به ترتیب در سرم فیزیولوژی و اتانل ۴ درصد حل شد و به ترتیب با دوزهای ۳ mg/kg و ۵ mg/kg تهیه و به میزان ۲ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان به‌صورت داخل صفاقی تزریق شدند. تزریق پروژسترون ۶۰ دقیقه قبل و تزریق کورتیکوسترون ۳۰ دقیقه قبل از آزمون به‌خاطرآوری صورت گرفت.

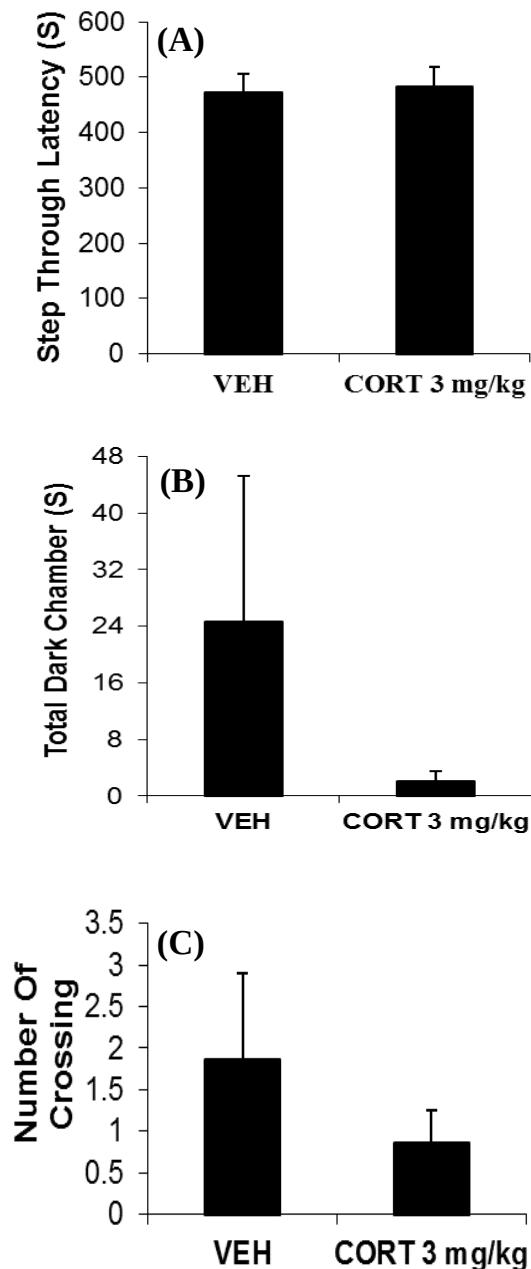
دستگاه احترازی غیرفعال محفظه‌ای مستطیل شکل از جنس پلکسی گلاس است که به دو قسمت تاریک و روشن تقسیم می‌شود (طول ۴۱ سانتیمتر، عرض ۲۰ سانتیمتر، ارتفاع ۲۰ سانتیمتر). بخش روشن از صفحات سفید یا شفاف ساخته شده و در بالای آن لامپی قرار دارد و بخش تاریک از صفحات سیاه ساخته شده است. این دو قسمت توسط یک درب کشویی به هم مربوط می‌شوند و در هنگام لزوم این درب باز و بسته می‌شود. کف جعبه از میله‌هایی از جنس فولاد ضدزنگ به قطر ۳/۰ سانتی‌متر ساخته شده است که به فاصله نیم سانتی‌متر از هم قرار دارند. جریان الکتریکی توسط دستگاه شوک‌دهنده (Stimulator) به میله‌ها منتقل می‌شود. دستگاه در یک اتاق با نور کم و حداقل سر و صدا قرار داده شد.

مرحله سازش: در روز اول حیوان در قسمت روشن دستگاه قرار داده شد. ۱۰ ثانیه بعد درب کشویی باز شده تا حیوان برای ۳ دقیقه آزادانه بین ۲ قسمت دستگاه رفت و آمد کند. سپس حیوان به حیوان‌خانه انتقال داده شد.

مرحله آزمون: ۲۴ ساعت بعد، حیوان در قسمت روشن دستگاه قرار گرفته و بعد از باز شدن درب کشویی و ورود حیوان به قسمت تاریک، درب بسته شده و حیوان از طریق میله‌های موجود در کف دستگاه، شوک الکتریکی ۱ میلی‌آمپری را برای مدت ۳ ثانیه دریافت نمود. ۳۰ ثانیه بعد از دریافت شوک حیوان از قسمت تاریک دستگاه به قفس خود انتقال داده شد.

مرحله آزمون: ۴۸ ساعت بعد از آموزش، آزمون به‌خاطرآوری انجام گرفت. حیوان در قسمت روشن دستگاه قرار داده شد. ۳ متغیر تاخیر زمان برای ورود به قسمت تاریک (Step-through latency, STL)، کل مدت زمانی که حیوان در قسمت تاریک مانده است (Time in dark chamber, TDC) و تعداد دفعات رفت و آمد

به‌خاطر‌آوری حافظه ترس موش‌های صحرایی در فاز دی‌استروس نتایج حاصل از آزمون تی بر روی STL ($p = 0.046$ و $t_{12} = 2/3$)، اثر معنی‌داری را بین دو گروه کنترل و دریافت‌کننده کورتیکوسترون نشان داد. این نتایج حاکی از این است که کورتیکوسترون منجر به اختلال در به‌خاطر‌آوری اطلاعات در فاز دی‌استروس می‌شود (نمودار ۲A).



نمودار ۱- اثر تزریق کورتیکوسترون (CORT ۳ mg/kg) بر مولفه های به‌خاطر‌آوری حافظه موش‌های صحرایی (A-C) در فاز پرواستروس. هر دو گروه، ۳۰ دقیقه قبل از آزمون به ترتیب حامل (سرم فیزیولوژی VEH) و کورتیکوسترون (۳ mg/kg) دریافت کردند. هر ستون بیانگر میانگین $\pm$ خطای استاندارد مربوط به ۷ سر موش در هر گروه است.

یک ساعت قبل از تست به‌خاطر‌آوری، مقدار ۵ mg/kg پروژسترون یا حامل آن، و نیم ساعت قبل از تست، دوز ۳ mg/kg کورتیکوسترون یا حامل آن، تزریق شد. ۴- بررسی اثرات تزریق خارجی پروژسترون بر اثرات کورتیکوسترون بر به‌خاطر‌آوری حافظه ترس در فاز دی‌استروس. در این آزمایش موش‌های سالم فاز دی‌استروس به ۴ گروه به شرح زیر تقسیم و تیمار شدند: حلال پروژسترون (الکل ۴ درصد)-حلال کورتیکوسترون (سرم فیزیولوژی)، حلال پروژسترون (الکل ۴ درصد)-کورتیکوسترون (۳ mg/kg)، پروژسترون (۳ mg/kg)-حلال کورتیکوسترون، پروژسترون (۳ mg/kg)-کورتیکوسترون (۳ mg/kg). در همه گروه‌ها، یک ساعت قبل از تست به‌خاطر‌آوری، مقدار ۵ mg/kg پروژسترون یا حامل آن، و نیم ساعت قبل از تست، دوز ۳ mg/kg کورتیکوسترون یا حامل آن، تزریق شد.

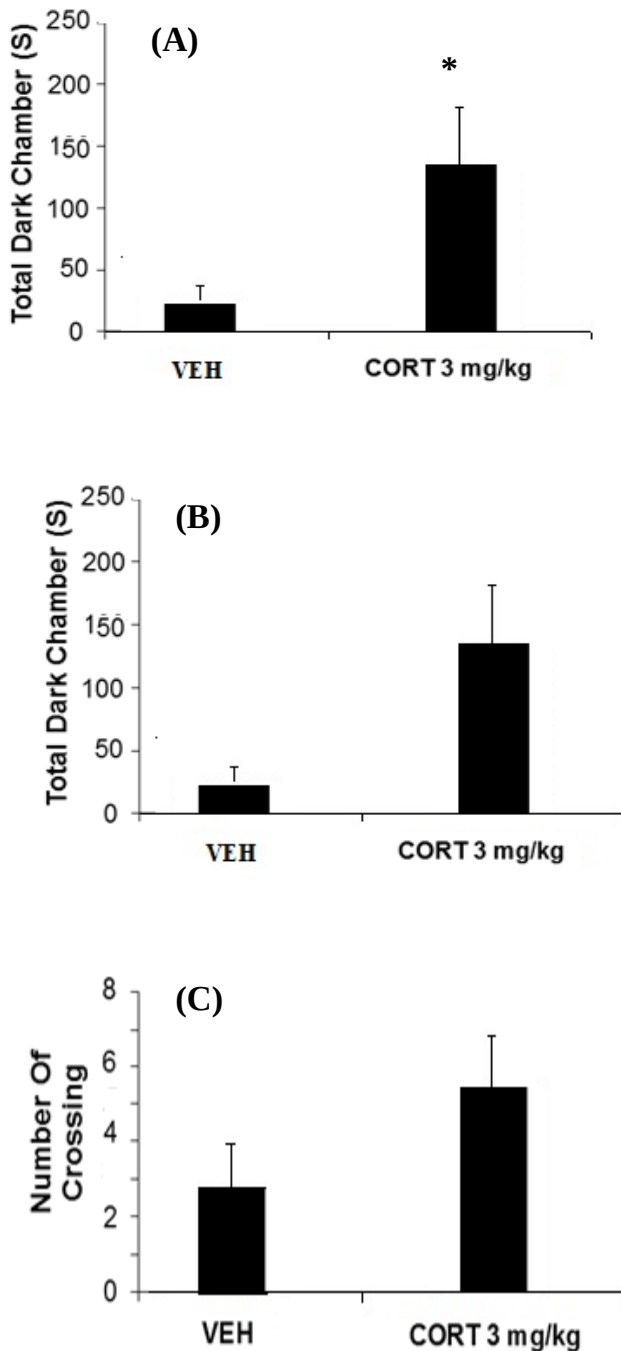
در صورت توزیع طبیعی داده‌ها (که با آزمون کالموگروف-اسمیرنف تعیین می‌شد)، برای مقایسه چند گروه از آنالیز واریانس یک طرفه و برای مقایسه بین دو گروه از آزمون تی (t-test) استفاده شد. در صورت نرمال نبودن داده‌ها از تست‌های غیر پارامتریک Kruskal-wallis و Mann-Whitney استفاده شد. در همه موارد $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌دار آماری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در مورد اثر مقدار ۳ mg/kg کورتیکوسترون بر به‌خاطر‌آوری حافظه ترس موش‌های صحرایی در فاز پرواستروس نتایج حاصل از آزمون تی (t-test) بر روی STL ($p = 0.816$ و $t_{12} = 0.238$) و TDC ($p = 0.315$ و $t_{12} = 1.096$) تفاوت معنی‌داری را بین دو گروه کنترل و دریافت‌کننده کورتیکوسترون نشان نداد که حاکی از عدم اثر کورتیکوسترون بر به‌خاطر‌آوری اطلاعات در فاز پرواستروس است (نمودار ۱A و ۱B). نتایج حاصل از تعداد رفت‌وآمد بین دو ناحیه تاریک و روشن (NC)، نیز تفاوت معنی‌داری را بین گروه دریافت‌کننده کورتیکوسترون و گروه حامل شان نداد ($p = 0.394$ و $t_{12} = 0.901$). این نتیجه حاکی از این است که این دو گروه از لحاظ فعالیت حرکتی با هم تفاوتی ندارند (نمودار ۱C).

در ارتباط با اثر مقدار ۳ mg/kg کورتیکوسترون بر

روی NOC نیز تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($p = 0/121$) و $p = 0/279$ ($F(3,27) = 2/9$)، نمودار ۴). بدین معنی که این گروه‌ها از لحاظ فعالیت حرکتی با هم تفاوتی ندارند و اثری که مشاهده می‌شود اختصاصاً بر روی حافظه است.

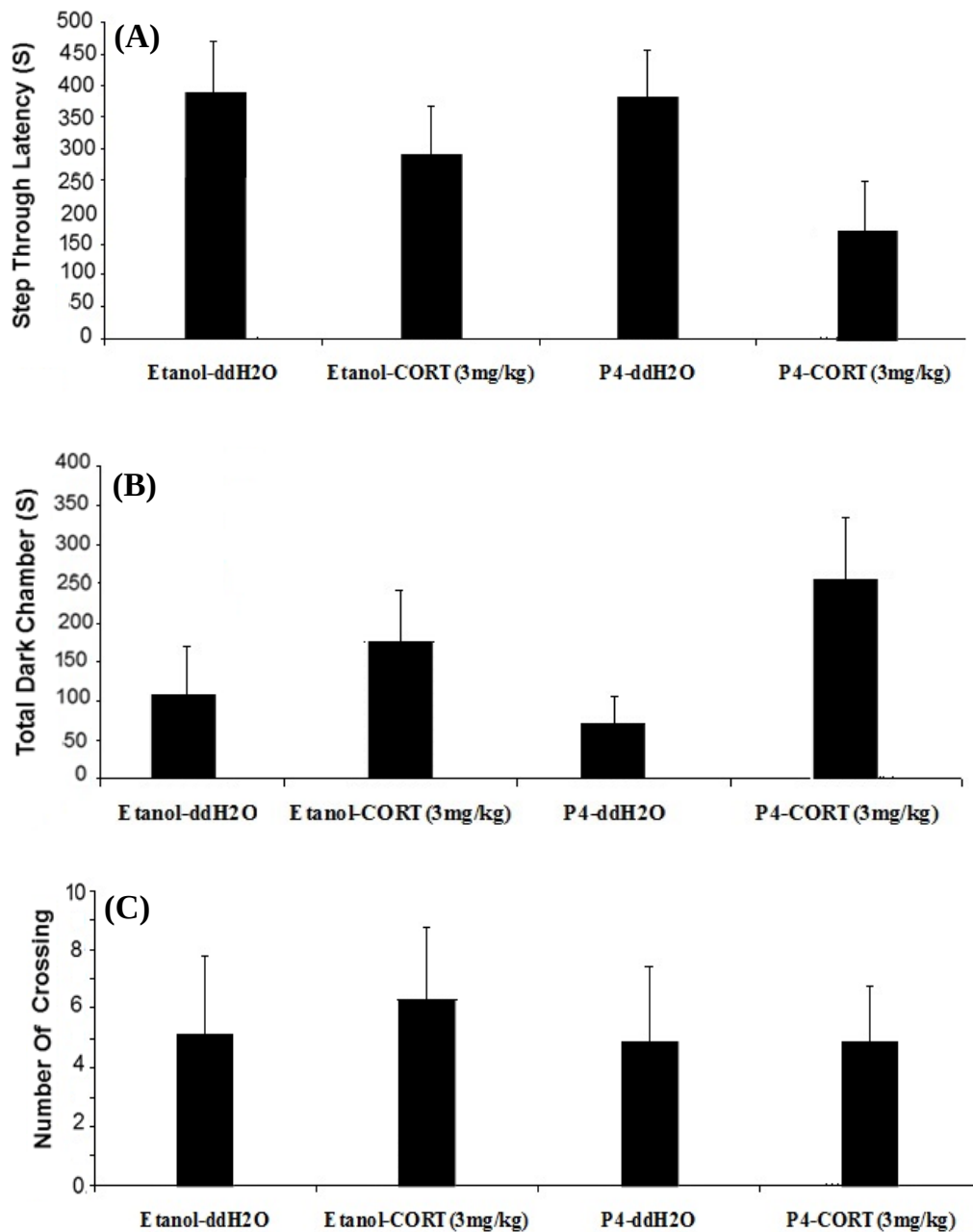


نمودار ۲- اثر تزریق کورتیکوسترون (CORT ۳ mg/kg) بر مولفه‌های به‌خاطر‌آوری حافظه موش‌های صحرایی (A-C) در فاز دی استروس. هر دو گروه، ۳۰ دقیقه قبل از آزمون به ترتیب حامل (سرم فیزیولوژی VEH) و کورتیکوسترون (۳ mg/kg) دریافت کردند. هر ستون بیانگر میانگین $\pm$ خطای استاندارد مربوط به ۷ سر موش در هر گروه است. *: تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل با $p < 0/05$.

نتایج حاصل از آزمون تی بر روی TDC اثر معنی‌داری را نشان نداد ($p = 0/076$ و $t(12) = 2/099$) (نمودار ۲B) اما همانطور که در نمودار نشان داده شده است موش‌هایی که کورتیکوسترون دریافت کردند، نسبت به گروه حامل، مدت زمان بیشتری را در ناحیه تاریک سپری کردند. نتایج حاصل از تعداد رفت‌وآمد بین دو ناحیه تاریک و روشن (NC)، نیز نشان داد که دو گروه از لحاظ فعالیت حرکتی با هم تفاوتی ندارند ($p = 0/161$ و $t(12) = 1/496$). این موضوع نشان می‌دهد که کورتیکوسترون فعالیت حرکتی را مختل نکرده است (شکل ۲C).

در بررسی اثرات تزریق پروژسترون بر اثرات کورتیکوسترون بر به‌خاطر‌آوری حافظه ترس در فاز پرواستروس نتایج حاصل از آزمون کروسکال والیس بر روی STL رابطه معنی‌داری را نشان نداد ($p = 0/122$ و $H = 5/789$) (نمودار ۳A). نتایج حاصل از تحلیل واریانس یک طرفه بر روی TDC نیز عدم معنی‌داری را نشان داد ($p = 0/226$ و $F(3,27) = 1/544$) (نمودار ۳B). این نتایج نشان داد که تزریق پروژسترون به همراه کورتیکوسترون منجر به کاهش معنی‌داری در به‌خاطر‌آوری نمی‌شود. آنالیز واریانس یک‌طرفه بر روی NC نیز تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($p = 0/962$ و $F(3,27) = 0/96$) (نمودار ۳C) که حاکی از عدم تفاوت گروه‌ها از لحاظ فعالیت حرکتی است.

در بررسی اثرات تزریق پروژسترون بر اثرات کورتیکوسترون بر به‌خاطر‌آوری حافظه در فاز دی‌استروس با توجه به توزیع غیر طبیعی داده‌ها، داده‌ها توسط آزمون کروسکال والیس آنالیز شدند که حاکی از تفاوت معنی‌دار بین STL بین گروه‌ها بود. نتایج حاصل از آزمون من-ویتنی ($p = 0/0$ و $U = 5/500$) حاکی از تفاوت معنی‌دار بین گروه دریافت‌کننده حامل-کورتیکوسترون و حامل بود (نمودار ۴A و ۴B) که حاکی از اثر تخریبی کورتیکوسترون بر به‌خاطر‌آوری حافظه در فاز دی‌استروس بود. اما نتایج حاصل از این آزمون برای سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری را نشان نداد که این نتیجه بیانگر این است که پروژسترون هم به تنهایی و هم توأم با کورتیکوسترون تاثیری بر به‌خاطر‌آوری حافظه ندارد. با این وجود، تحلیل واریانس یک‌طرفه بر روی TDC نشان دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها بود ($p = 0/062$ و $F(3,27) = 2/757$). تحلیل واریانس یک طرفه بر

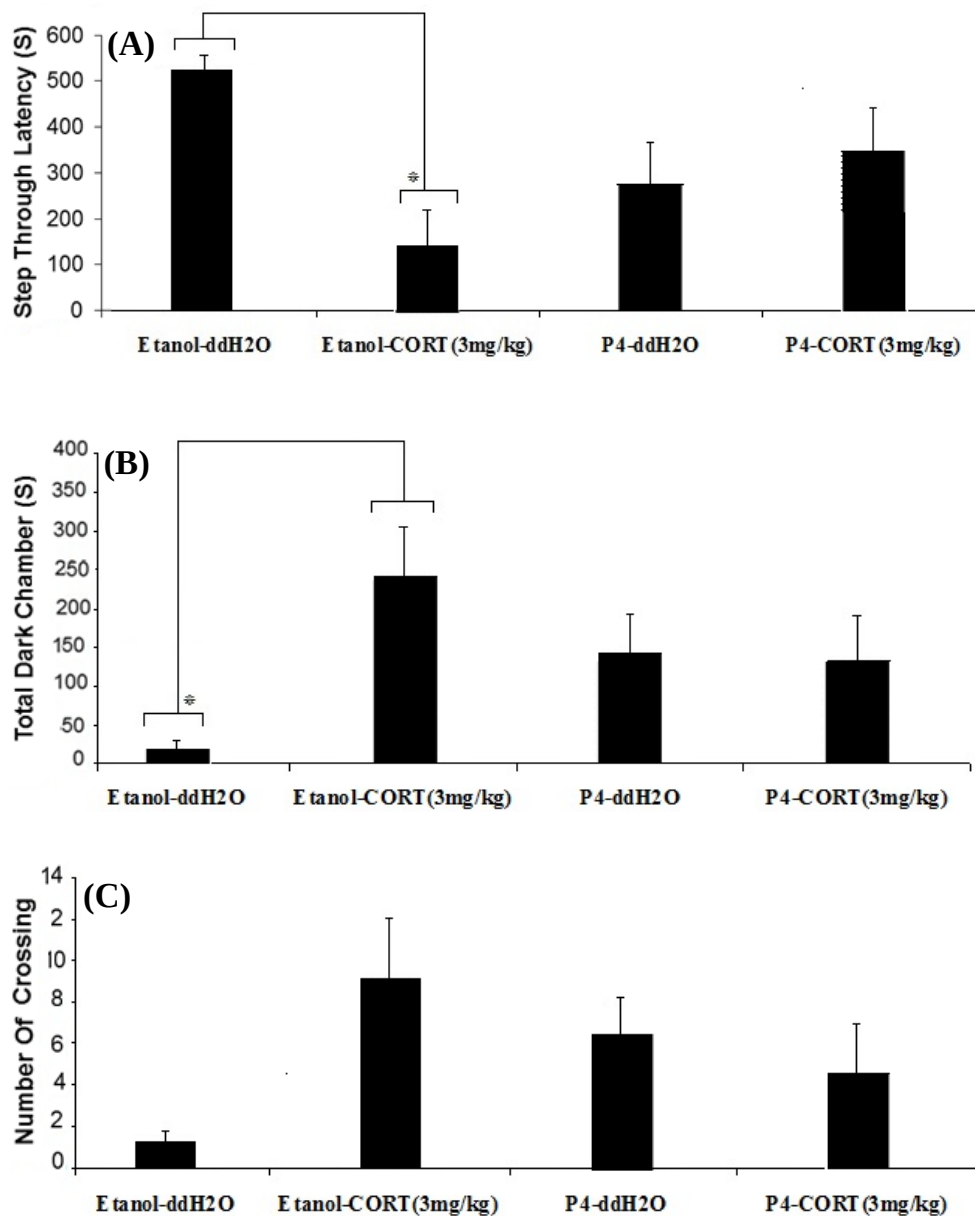


نمودار ۳ - اثر تزریق پروژسترون (P4) بر نقش کورتیکوسترون (CORT) بر مولفه‌های به‌خاطر‌آوری حافظه موش‌های صحرایی (A-C) در فاز پرواستروس. در کلیه گروه‌ها تزریق اول، ۶۰ دقیقه قبل از آزمون و تزریق دوم ۳۰ دقیقه قبل از آزمون انجام شد. گروه اول و دوم در تزریق اول خود حلال پروژسترون (اتانل ۴٪) و در تزریق دوم به ترتیب حلال کورتیکوسترون (سرم فیزیولوژی، dd H₂O، یا کورتیکوسترون (۳ mg/kg) و گروه‌های سوم و چهارم به ترتیب پروژسترون (۵ mg/kg) و حلال کورتیکوسترون (سرم فیزیولوژی) یا کورتیکوسترون (۳ mg/kg) دریافت کردند. هر ستون بیانگر میانگین $\pm$ خطای استاندارد مربوط به ۷-۱۰ سر موش در هر گروه است.

بحث

دی‌استروس (که غلظت پروژسترون داخلی پایین است)، منجر به اختلال در به‌خاطر‌آوری می‌شود. تزریق دوز فارماکولوژیک پروژسترون اثرات کورتیکوسترون را در هیچ کدام فازها تحت تاثیر قرار نداد. به‌طور کلی، گلوکوکورتیکوئیدها اثرات تسهیلی و یا مهار

یافته‌های اصلی این مطالعه نشان داد که تزریق کورتیکوسترون در دوز ۳ mg/kg به موش‌های ماده سالم در فاز پرواستروس (که غلظت پروژسترون درونی بالا است)، به‌خاطر‌آوری حافظه را مختل نکرد؛ درحالی که در فاز



نمودار ۴- اثر تزریق پروژسترون (P4) بر نقش کورتیکوسترون (CORT) بر مولفه‌های به‌خاطر‌آوری حافظه موش‌های صحرایی (A-C) در فاز دی‌استروس. در کلیه گروه‌ها تزریق اول، ۶۰ دقیقه قبل از آزمون و تزریق دوم ۳۰ دقیقه قبل از آزمون انجام شد. گروه اول و دوم در تزریق اول خود حلال پروژسترون (اتانل ۴٪) و در تزریق دوم به ترتیب حلال کورتیکوسترون (سرم فیزیولوژی، dd H₂O) یا کورتیکوسترون (۳ mg/kg) و گروه‌های سوم و چهارم به ترتیب پروژسترون (۵ mg/kg) و حلال کورتیکوسترون (سرم فیزیولوژی) یا کورتیکوسترون (۳ mg/kg) دریافت کردند. هر ستون بیانگر میانگین $\pm$ خطای استاندارد مربوط به ۱۰-۷ سر موش در هر گروه است. *: تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل با $p < 0.05$.

یادگیری را فعال می‌کند. افزایش شدید سطح فیزیولوژیک استروژن و پروژستین در موش‌های صحرایی ماده سالم و جوان با افزایش عملکرد شناختی در بعضی از مدل‌های یادگیری و حافظه همراه است [۱۳].

در مطالعات قبلی ما مشاهده کردیم تزریق محیطی کورتیکوسترون (۱، ۳، ۱۰ mg/kg) به موش‌های صحرایی

بر روی حافظه دارند که این اثرات به متغیرهای زیادی از جمله شدت محرک استرس‌زا یا مقدار تزریق کورتیکوسترون، نوع مرحله حافظه، نوع استرس، زمان تزریق کورتیکوسترون و جنسیت حیوان وابسته می‌باشد. علاوه بر گلوکوکورتیکوئیدها، هورمون‌های تخمدان نیز بر حافظه اثر می‌گذارند. مطالعات بسیاری نشان داده‌اند که استروژن به سرعت حافظه و فرآیند

اوارکتومی‌شده، ۳۰ دقیقه قبل از آزمون، به‌خاطر‌آوری اطلاعات را در مدل یادگیری احترازی غیر فعال مختل می‌کند [۱۱].

نتایج این مطالعه نشان داد که تزریق کورتیکوسترون ۳۰ دقیقه قبل از آزمون به‌خاطر‌آوری، به موش‌های صحرایی سالم در فاز پرواستروس (که سطح استروژن و پروژسترون بالا است) اثری بر به‌خاطر‌آوری حافظه ندارد در حالی که در فاز دی استروس (که سطح استروژن و پروژسترون پایین است) آن را مختل می‌کند. این یافته، نتایج مطالعه قبلی ما را تایید می‌کند [۱۱] و نشان می‌دهد که اثرات مخرب کورتیکوسترون روی به‌خاطر‌آوری حافظه به غلظت هورمونهای جنسی خون وابسته است. در بسیاری از مطالعات مشخص شده است که فازهای مختلف چرخه استروس، با سطوح متفاوتی از هورمون‌های جنسی، در پاسخ به استرس مزمن، مؤثر است و بسته به زمان چرخه‌ی استروس، ترشح کورتیکوسترون و عملکرد شناختی حیوان تغییر می‌نماید [۱۴]. سطح گلوکوکورتیکوئیدها در طی فاز پرواستروس نسبت به سایر فازهای چرخه‌ی جنسی بالاتر است [۱۵]. همچنین، تراکم خارهای دندرتی ناحیه CA1 در فازهای مختلف چرخه استروس، نوسان داشته و بالاترین تراکم در طی پرواستروس دیده می‌شود [۱۶]. صرف نظر از حضور استرس و یا تزریق کورتیکوسترون، موش‌های صحرایی ماده در طی فاز پرواستروس عملکرد بهتری دارند. موش‌های صحرایی ماده در طی فاز پرواستروس از موش‌های موجود در سایر فازها سریعتر یاد می‌گیرند و این نتایج پیشنهاد می‌کند که استروژن و پروژسترون به طور مثبتی با عملکرد یادگیری در تست‌ها مرتبط است [۱۷]. در تست‌های شناختی مختلفی، موش‌های صحرایی در فاز پرواستروس بهتر از سایر مراحل چرخه استروس عمل می‌کنند [۱۸].

به نظر می‌رسد هورمون‌های جنسی بویژه استروژن با اثر حفاظتی خود بر روی هیپوکامپ و با اصلاح محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-فوق‌کلیوی، قادر است بر ترشح کورتیکوسترون یا تراکم گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی، اثر گذاشته و از اختلال ناشی از استرس جلوگیری کند [۱۹]. آزمایش‌های دیگری نشان داده است که استروئیدهای جنسی فعالیت این محور را از طریق گیرنده‌های مینرالوکورتیکوئیدی تعدیل می‌کنند به گونه‌ای که استرادیول سبب کاهش بیان mRNA گیرنده‌های مینرالوکورتیکوئیدهای هیپوکامپ شده و اتصال آن‌ها را کاهش می‌دهد که این روند سبب کاهش

اتصال کورتیکوسترون به گیرنده‌های خود و کاهش اثر اختلالی کورتیکوسترون بر روی حافظه می‌شود [۲۰].

در مطالعه فعلی همچنین مشخص شد که تزریق کورتیکوسترون (۳ mg/kg) ۳۰ دقیقه قبل از آزمون به موش‌های صحرایی سالم در فاز دی‌استروس (زمانی که سطح استروژن و پروژسترون پایین است) منجر به اختلال در به‌خاطر‌آوری حافظه شد و این نتیجه تایید می‌کند که اثرات گلوکوکورتیکوئیدها بر به‌خاطر‌آوری حافظه در موش‌های صحرایی ماده بالغ بستگی به سطح استروژن و پروژسترون دارد. در مطالعات زیادی مشخص شده است که استروژن اثرات بسیار مهمی بر روی حافظه دارد. به گونه‌ای که حضور این هورمون سبب افزایش تراکم خارهای دندرتی در نوروهای هیپوکامپی ناحیه CA1 می‌شود. با توجه به بررسی‌های انجام شده بر روی تراکم خارهای دندرتی در طی چرخه‌ی استروس، مشاهده شد که در طی پرواستروس، تراکم خار و تعداد سیناپس‌ها بالا است ولی به دنبال آن، یک کاهش سریع در تراکم خارها در طی فاز استروس وجود دارد و تراکم متوسطی در طی فاز دی‌استروس مشاهده می‌شود [۱۱]. مطالعات نشان داده است که با افزایش سن (کاهش استروژن) عملکرد شناختی کاهش می‌یابد و تغییری در ساختار و عملکرد سلول‌ها رخ می‌دهد که سرانجام بر روی مکانیسم‌های انعطاف‌پذیری سیناپسی تأثیر می‌گذارد. این تغییرات منجر به کاهش آستانه برای القاء LTD می‌شود [۲]. در این مطالعه ما مشاهده کردیم که با کاهش استروژن و پروژسترون در فاز دی‌استروس، اثر کورتیکوسترون تغییر نمی‌کند و کورتیکوسترون سبب اختلال به‌خاطر‌آوری حافظه می‌شود. در فاز دی‌استروس، سطح پروژسترون پایین و در حال افزایش است [۱۵]. پروژسترون بر فعالیت محور هیپوتالاموس-هیپوفیزی-فوق‌کلیوی اثر می‌گذارد و بیان mRNA گیرنده مینرالوکورتیکوئیدی هیپوکامپ را افزایش می‌دهد که به دنبال آن سبب اتصال بیشتر کورتیکوسترون تزریق شده به گیرنده خود می‌شود [۱۵].

در مطالعه اخیر ما مشاهده کردیم که تزریق همزمان کورتیکوسترون و استروژن در هر کدام از فازها سبب اختلال در به‌خاطر‌آوری حافظه می‌شود [۱۱]. نتایج این آزمایش نشان داد که تزریق همزمان پروژسترون و کورتیکوسترون قادر نیست که اثرات کورتیکوسترون را در فازهای مطالعه شده تغییر دهد.

ملاحظات مالی

این کار بخشی از پایان نامه خانم رضیه محمدخانی برای دریافت درجه کارشناسی ارشد فیزیولوژی است. هزینه و امکانات این کار توسط مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی سمنان و دانشگاه اراک تامین شده است که بدین وسیله تشکر و قدرانی می‌شود.

تعارض در منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

سهم نویسندگان

ن.ب: انجام مطالعه و نگارش مقاله؛ ر.م: انجام مطالعه و نگارش مقاله؛ ع.ع.و: انجام مطالعه و نگارش مقاله؛ ع.ر.پ: ایده، طراحی، نظارت بر حسن اجرای مطالعه و نگارش مقاله.

فهرست منابع

- [1] Sandi C, Glucocorticoids act on glutamatergic pathways to affect memory processes. *Trends Neurosci* 34 (2011) 165-176.
- [2] Rosenzweig ES, Barnes CA, Impact of aging on hippocampal function: plasticity, network dynamics, and cognition. *Prog Neurobiol* 69 (2003) 143-179.
- [3] Hirata S, Osada T, Hirai M, Hagiwara K, Kato J, Expression of estrogen receptor in the rat brain: detection of its mRNA using reverse transcription-polymerase chain reaction. *J Steroid Biochem Mol Biol* 41 (1992) 583-587.
- [4] Altemus M, Roca C, Galliven E, Romanos C, Deuster P, Increased vasopressin and adrenocorticotropin responses to stress in the midluteal phase of the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 86 (2001) 2525-2530.
- [5] Handa RJ, Burgess LH, Kerr JE, O'keefe JA, Gonadal Steroid Hormone Receptors and Sex Differences in the Hypothalamo-Pituitary-Adrenal Axis. *Horm Behav* 28 (1994) 464-476.
- [6] McLean AC, Valenzuela N, Fai S, Bennett SA, Performing vaginal lavage, crystal violet staining, and vaginal cytological evaluation for mouse estrous cycle staging identification. *J Vis Exp* 67 (2012) e:4389.
- [7] Walf AA, Koonce C, Manley K, Frye CA, Proestrous compared to diestrous wildtype, but not estrogen receptor beta knockout, mice have better performance

این موضوع نشان می‌دهد که احتمالاً، پروژسترون نقش مهمی در تعدیل اثر گلوکوکورتیکوئیدها بر فعالیت شناختی ندارد و بر اساس مطالعه قبلی ما [۱۱]، احتمالاً استروژن به عنوان هورمون اصلی جنسی است که اثرات گلوکوکورتیکوئیدها را بر فعالیت‌های شناختی تعدیل می‌کند.

نتیجه‌گیری

به طور کلی، نتایج این مطالعه نشان داد که تزریق کورتیکوسترون اندکی قبل از تست به خاطر‌آوری، بیان حافظه در فاز دی استروس ولی نه پرواستروس سیکل جنسی در موش‌های سالم بالغ را مختل می‌کند. از طرف دیگر، تزریق پروژسترون قادر نیست پاسخ‌های ناشی از کورتیکوسترون در هیچ کدام از فازها را تغییر دهد. نتایج این مطالعه همراه با مطالعه اخیر ما [۱۱]، نشان می‌دهد که اثرات گلوکوکورتیکوئیدها روی به‌خاطر‌آوری حافظه توسط مرحله سیکل جنسی و غظت استروژن خون (ولی نه پروژسترون) تعدیل می‌شود.

- in the spontaneous alternation and object recognition tasks and reduced anxiety-like behavior in the elevated plus and mirror maze. *Behav Brain Res* 196 (2009) 254-260.
- [8] Walmer DK, Wrona MA, Hughes CL, Nelson KG, Lactoferrin expression in the mouse reproductive tract during the natural estrous cycle: correlation with circulating estradiol and progesterone. *Endocrinology* 131 (1992), 1458-1466.
- [9] Singh M, Su C, Progesterone and neuroprotection. *Horm Behav* 63 (2013) 284-290.
- [10] Ben J, Soares F, Scherer E, Cechetti F, Netto CA, Wyse ATS, Running exercise effects on spatial and avoidance tasks in ovariectomized rats. *Neurobiol Learn Mem* 94 (2010) 312-317.
- [11] Mohammadkhani R, Darbandi N, Vafaei AA, Rashidy-Pour A, Ahmadiipour A, Glucocorticoid-induced impairment of long-term memory retrieval in female rats: Influences of estrous cycle and estrogen. *Neurobiol Learn Mem* 8 (2015) 209-215.
- [12] Rashidy-pour A, Sadeghi H, Taherain AA, Vafaei AA, Fathollahi Y, The effects of acute restraint stress and dexamethasone on retrieval of long-term memory in rats: an interaction with opiate system. *Behav Brain Res* 154 (2004) 193-198.
- [13] Luine VN, Frankfurt M, Estrogens facilitate memory processing through membrane mediated mechanisms and alterations in spine density. *Front Neuroendocrinol* 33 (2012) 388-402.
- [14] Luine VN, Beck KD, Bowman RE, Frankfurt M, Maclusky NJ, Chronic stress and neural function:

- accounting for sex and age. *J Neuroendocrinol* 19 (2007) 743-751.
- [15] Figueiredo HF, Dolgas CM, Herman JP, Stress activation of cortex and hippocampus is modulated by sex and stage of estrus. *Endocrinology* 143 (2002) 2534-2540.
- [16] Shors TJ, Chua C, Falduto J, Sex differences and opposite effects of stress on dendritic spine density in the male versus female hippocampus. *J Neurosci* 21 (2001) 6292-6297.
- [17] Shors TJ, Lewczyk C, Pacynski M, Mathew PR, Pickett J, Stages of estrous mediate the stress-induced impairment of associative learning in the female rat. *Neuroreport* 9 (1998) 419-423.
- [18] Frye CA, Duffy CK, Walf AA, Estrogens and progestins enhance spatial learning of intact and ovariectomized rats in the object placement task. *Neurobiol Learn Mem* 88 (2007) 208-216.
- [19] Bowman RE, Zrull MC, Luine VN, Chronic restraint stress enhances radial arm maze performance in female rats. *Brain Res* 904 (2001) 279-289.
- [20] McEwen BS, Stress, sex, and neural adaptation to a changing environment: mechanisms of neuronal remodeling. *Ann NY Acad Sci* 1204 (2010) 38-59.

Research paper

Effects of acute injection of corticosterone and progesterone on memory retrieval in the proestrus and diestrous stages in adult female ratsNiloufar Darbandi¹, Raziye Mohammadkhani^{1,2}, Abbas-Ali Vafaei², Ali Rashidy-Pour^{2*}

1. Department of Biology, Faculty of Sciences, Arak University, Arak, Iran

2. Research Center and Department of Physiology, School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

Received: 11 May 2015

Accepted: 11 June 2015

Abstract

Background and aim: Acute injection of corticosterone impairs memory retrieval in experimental animals. On the other hand, sex hormones can modulate memory retrieval. The aim of this study was to examine the effects of concurrent injections of corticosterone and progesterone on memory retrieval in the proestrus (when the levels of endogenous estrogen and progesterone are high) and diestrous (when the levels of endogenous estrogen and progesterone are low) stages in adult female rats.

Methods: Adult female Wistar rats were trained in an inhibitory avoidance task (1mA, 3s). The latency to reenter the dark compartment and also time spent in the dark chamber were recorded in the retention test performed 48 h after training. In experiments 1 and 2, corticosterone (3 mg/kg, i.p) or vehicle was injected to intact female rats in the proestrus or diestrus phases 30 min before retention test. In experiments 3 and 4, rats in the proestrus or diestrus phase were received vehicle or progesterone (5 mg/kg, i.p) 60 min, and vehicle or corticosterone (3 mg/kg) 30 min before the test.

Results: Acute injection of corticosterone to female rats in the diestrous stage, but not in the proestrus stage impaired memory retrieval. Pretreatment with progesterone did not influence the corticosterone effects on memory retrieval in the proestrus or diestrus phases.

Conclusion: Corticosterone impairs memory retrieval only in the proestrus phase and this effect did not change with pharmacological levels of progesterone.

Keywords: Corticosterone, Estrus cycle, Memory retrieval, Progesterone

Please cite this article as follows:

Darbandi N, Mohammadkhani R, Vafaei AA, Rashidy-Pour A, Effects of acute injection of corticosterone and progesterone on memory retrieval in the proestrus and diestrous stages in adult female rats. *Iran J Physiol Pharmacol* 1 (2017) 19-29.

*Corresponding author e-mail: rashidy-pour@semums.ac.ir

Available online at: <http://ijpp.phypha.ir>

E-mail: ijpp@phypha.ir