

Role of the Androgen Receptors in Memory Impairment in Mature Male Rats

S. R. Pourrabi^{1*}, A. R. Mohajjel Nayebi²,
S. E. Hossini³

1, 3, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Fars, 2, Department of pharmacology and toxicology, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz

(Received: Nov. 20, 2013; Accepted: Dec. 1, 2013)

Abstract

Steroidal sex hormones especially testosterone have a protective effect in neurodegenerative events such as Alzheimer Disease. The present study was designed to explore effect of testosterone and androgen receptors in memory impairment induced by intra- cerebroventricular (icv) injection of streptozotocin (STZ) as a model of sporadic AD. In this research animals were divided randomly into 11 equal groups. Experimental model of AD was induced by bilateral icv injection of STZ. STZ-induced memory impairment was assessed two weeks after the last dose of STZ by using a passive avoidance task. The interval between the placement of animals in the illuminated chamber and the entry into the dark chamber was measured as step-through latency (STL). Castration was performed by surgical removing of testis and behavioral study of memory impairment was done after 4 weeks. Results of this study showed that icv injection of STZ could induce marked ($p < 0.001$) memory impairment. Memory was worsened in castrated rats ($P < 0.001$) when compared with normal and sham-operated animals. Testosterone replacement therapy in 4 week castrated rats restored memory up to the level of control groups. Testosterone had not any significant effect on memory impairments of non-castrated rats. According to the obtained results it can be concluded that testosterone improves cognitive and memory impairment of AD.

Keywords: Testosterone, Memory, Alzheimer disease, Streptozotocin, Rat.

نقش گیرنده‌های آندروژنی بر روی اختلالات حافظه و یادگیری در موش‌های صحرایی نر بالغ

سیدرضا پورربی^{۱*}، علیرضا محجل نایبی^۲،
سید ابراهیم حسینی^۳

۱، ۳. عضو هیئت علمی گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی،

واحد علوم و تحقیقات فارس

۲. دانشجوی دکتری گروه داروشناسی و سم‌شناسی،

دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تبریز

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۸/۲۹، تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۹/۱۰)

چکیده

هورمون‌های جنسی خصوصاً تستوسترون دارای اثر محافظتی بر روی نورون‌های مغزی در بیماری‌های نورودژنراتیو نظیر بیماری آلزایمر می‌باشند. مطالعه حاضر اثر مهم و برجسته تستوسترون و گیرنده‌های آندروژنی را بر روی اختلالات حافظه که به وسیله تزریق داخل بطنی استریپتوزوتوسین ایجاد شده است، نشان می‌دهد. در این تحقیق حیوانات به صورت تصادفی به ۱۱ گروه تقسیم گردید. مدل آزمایشی بیماری آلزایمر به وسیله تزریق دو طرفه درون بطنی داروی استریپتوزوتوسین صورت گرفت، و دو هفته بعد از اولین تزریق داروی مذکور، حیوانات با استفاده از آزمون یادگیری احترازی غیرفعال مورد بررسی قرار گرفتند، به طوری که فاصله زمانی مابین ورود حیوان از خانه روشن به خانه تاریک دستگاه بر حسب ثانیه اندازه‌گیری شد و تحت عنوان تاخیر در مرحله ورود (STL) نامگذاری گردید. در گروه گنادکتومی، عمل جراحی حذف بیضه‌ها صورت گرفت و مطالعات رفتاری بر روی اختلالات حافظه بعد از ۴ هفته انجام شد. نتایج مربوط به این مطالعه نشان داد که تزریق داروی استریپتوزوتوسین، اختلالات حافظه را به صورت معنی‌دار $P < 0.001$ ایجاد نمود. حافظه در موش‌های صحرایی گنادکتومی شده به صورت معنی‌دار $P < 0.001$ در مقایسه با موش‌های نرمال و شم‌ها کاهش یافت. درمان جایگزین با تستوسترون، حافظه را به سطح موش‌های نرمال رسانید. جالب توجه این که تستوسترون هیچ‌گونه اثر مشخص و معنی‌دار بر روی حافظه موش‌های صحرایی نرمال نداشت. مجموع نتایج در این مقاله نشان داد که تستوسترون اختلالات حافظه مربوط به بیماری آلزایمر را بهبود بخشد.

واژه‌های کلیدی: تستوسترون، حافظه، بیماری آلزایمر، استریپتوزوتوسین، موش صحرایی.

مقدمه

بیماری آلزایمر جزء بیماری‌های نورودژنراتیو مربوط به افراد مسن بوده که در آنها اختلالات حافظه (Price *et al.*, 1993)، سرکوب زبان (Esteban-Santillan, 1998)، اختلالات بینایی فضائی (Kirk and Kertesz, 1991) و ناتوانی‌های حسی و حرکتی (Hardy and Selkoe, 2002) دیده می‌شود. این بیماری در نتیجه تجمع و افزایش پروتئین بتا آمیلوئید به وجود می‌آید (Melcangi and Martini, 1993). از نظر پاتوژنز بیماری آلزایمر، با به وجود آمدن پلاک‌های مغزی که نتیجه رسوب پروتئین‌های بتا آمیلوئید، و دیستروفی سلول‌های عصبی در مناطق انتهائی نئوکورتیکال و دیگر مناطق مغزی، مشخص می‌شود. از طرف دیگر تشکیل تانگل‌های نورونی در مناطق میانی لوب گیجگاهی، عامل از بین رفتن نورون‌های مغزی بوده، که در ایجاد و پیشروی بیماری آلزایمر بسیار مهم می‌باشد (Kirk and Kertesz, 1991). مغز به عنوان بافت هدف مناسب برای آندروژن‌ها بوده که دارای گیرنده‌های زیادی برای آنها می‌باشد (Pike, 2008; Spritzer, 2008). فعالیت گیرنده‌های آندروژنی بر روی نورون‌ها و سلول‌های گلیائی در مناطق حساس به آندروژن در درون مغز صورت می‌گیرد (Falkenstein, 2000). تنظیم فعالیت گیرنده‌های آندروژنی و ترجمه mRNA و حفاظت از گیرنده‌های آندروژنی در بافت‌های مختلف بدن نظیر بافت مغزی به وسیله هورمون آندروژن صورت می‌گیرد (Bialek, 2004; Patchev, 2004). در سلول‌های عصبی و گلیائی کورتکس مناطق مختلف مغز، خصوصاً در هیپوتالاموس، تالاموس، هیپوکامپ و آمیگدال، گیرنده‌های آندروژنی وجود دارند که به خوبی از دیگر گیرنده‌ها قابل تفکیک می‌باشند (Moffat, 2002). در طول عمر موجود، آندروژن‌ها، در تعدادی از عملکردهای حیاتی بدن شرکت می‌نمایند. تستوسترون در دوران پیش از تولد و هم چنین پس از تولد در تغییرات نورونی و در ارگانیزاسیون نورونی و گلیائی دخالت می‌کند و از مشخصات کلینیکی مغزی در این زمینه اختلالات در تشخیص نظیر، کاهش کارایی حافظه‌ای که وابسته به کورتکس پیشانی و کاهش حافظه طولانی مدت وابسته به هیپوکامپ و دیگر مناطق تمپورال مغز میانی دیده می‌شود (Price, 1993).

آندروژن‌ها، خصوصاً تستوسترون در ارتباط با تشخیص و حافظه به صورت مشخص، عمل نموده به طوری که کاهش و حذف تستوسترون، منجر به اختلالات حافظه و افزایش بیماری‌های نورودژنراتیو و صدمات مغزی نظیر بیماری آلزایمر

و پارکینسون و هانتینگتون می‌شود (Rosario, 2004). سطح تستوسترون مغزی در افراد مبتلا به بیماری آلزایمر پیشرفته به صورت معنی‌داری کاهش یافته، که نشانه پیشروی بیماری نورودژنراتیو آلزایمر می‌باشد (Emmelot-Vonk, 2008). نتایج مطالعات کلینیکالی، اثرات درمانی تستوسترون، بر روی رفتارهای تشخیص و حافظه را در بین افراد مسن به صورت مختلف بیان می‌کند، که در این زمینه، نتایج چندین مطالعه نشان می‌دهد که تستوسترون، توانایی حافظه فضائی افراد مسن را بهبود می‌بخشد (Hasegawa, 2009; Janowsky, 1994). همچنین نتایج مطالعات بروی حیوانات، که تست‌های رفتاری arm maze, T-maze انجام شده همین موضوع را تصدیق می‌نماید (Rosario, 2004). در صورتی که، تعدادی از مطالعات نشان می‌دهد جایگزین تستوسترون، حافظه فضائی را در موش‌های صحرائی گنادکتومی شده در تست arm maze به حد نرمال برنمی‌گرداند (Gibbs, 2008; Hebert, 2003). از طرف دیگر هیچ‌گونه تحقیق و پژوهشی در رابطه با اثرات تستوسترون بر روی بیماری آلزایمر که با داروی استرپتوزوتوسین به صورت دو طرفه و درون بطنی صورت گرفته، و با استفاده از آزمون یادگیری احترازی غیرفعال سنجیده شده باشد وجود نداشته، فلذا این مسئله نیازمند آزمایشات متعددی است. بنابراین در این مطالعه، تأثیر تستوسترون و گیرنده‌های آندروژنی را در اختلالات حافظه، مدل بیماری آلزایمر که به وسیله داروی استرپتوزوتوسین ایجاد شده است را با استفاده از آزمون یادگیری احترازی غیرفعال مورد توجه قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

به جزء تستوسترون انانتات که از شرکت داروپخش (تهران- ایران) تهیه شده است بقیه مواد شیمیایی از سیگما تهیه شد. تمام مواد محلول به صورت تازه و روزانه تهیه گردید. تستوسترون محلول در روغن کرچک و استرپتوزوتوسین محلول در مایع مغزی نخاعی مصنوعی مورد استفاده قرار گرفت.

در این تحقیق، ۸۸ سر موش صحرائی نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۲۰ گرم تحت آزمایش قرار گرفت. تمام حیوانات در خانه حیوانات به صورت استاندارد، چهار عدد در درون یک باکس پلی پروپیلن تحت شرایط دوازده ساعت تاریکی و دوازده ساعت روشنائی، و دمای $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ، با آب و غذای کافی نگهداری شدند. تمام آزمایشات تحت شرایط

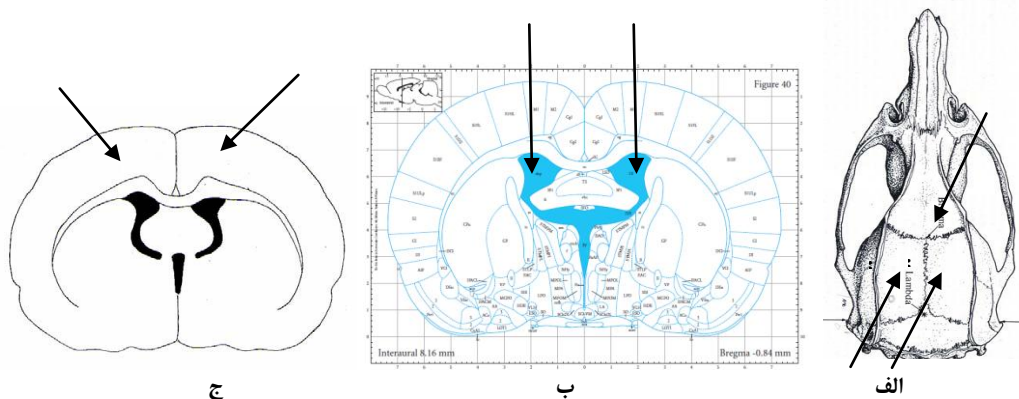
تزریق درون بطنی استرپتوزوتوسین

بعد از بیهوشی، سر موش‌های صحرایی در دستگاه استریوتاکسی تثبیت، و موهای بالای سر با تیغ اصلاح، و با بتادین استریل گردید. سپس به وسیله تیغ جراحی شیار طولی به اندازه ۱ سانتی‌متر در پوست بالای سر ایجاد شد. بعد از مشخص کردن منطقه برگما، با کمک اطلس استریوتاکس (۱۸)، $AP = -0.84 \text{ mm}$ از منطقه برگما، $ML = \pm 1/6 \text{ mm}$ به صورت دو طرفه و $DV = 3/4 \text{ mm}$ مشخص، و در نهایت مجموعه از این منطقه سوراخ گردید (شکل ۱). به کمک میکرواینجکشن با سرنگ همپلتون با سرعت 0.2 میکرو لیتر در دقیقه داروی استرپتوزوتوسین با دوز 3 میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن در 10 میکرولیتر مایع مغزی نخاعی مصنوعی به صورت دو طرفه در روزهای اول و سوم با فاصله 72 ساعت از هم تزریق گردید.

استاندارد و استریل در آزمایشگاه علوم پزشکی دانشگاه تبریز، دانشکده داروسازی انجام شد.

عمل جراحی گنادکتومی (Castration)

حیوانات با تزریق درون صفاقی 6 میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن کتامین و 60 میلی‌گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن زایلازین، بی‌هوش شدند. موهای سطح شکمی اسکروتوم با تیغ، اصلاح و با بتادین (شرکت بهوازان، رشت-ایران) استریل گردید. سپس $1/5$ سانتی‌متر از منطقه میان اسکروتوم با تیغ جراحی برش داده شد، و بیضه‌ها به صورت دو طرفه از مکان برش بیرون آورده شده، و از منطقه بالای اپی‌دیدیم با نخ بخیه سیلک $0/4$ بسته و بیضه‌ها خارج شدند. در نهایت محل برش با نخ جراحی، بخیه شد. در گروه شم جراحی تمام اعمال جراحی بدون بیرون آوردن بیضه‌ها انجام شد. مطالعات رفتاری برای این گروه 4 هفته بعد از عمل جراحی انجام گردید.



شکل ۱. محل تزریق داروی استرپتوزوتوسین

(الف) منطقه برگما و منافذ ایجاد شده در مجموعه، (ب) بطن‌های مغزی (اطلس استریوتاکسی)، (ج) مکان تزریق دارو به بطن‌های مغزی

محفظه، روشن و تاریک که به وسیله درب گیوتین از هم جدا می‌شد. در کف دستگاه، میله‌های استیلی وجود دارند که به وسیله آن، جریان الکتریکی (عامل شوک) عبور داده می‌شد. در ارتباط با تست‌های رفتاری 3 مرحله مشخص و جدا از هم در نظر گرفته شد که می‌توان به مراحل: سازگاری، اکتساب یادگیری و مرحله یادآوری اشاره کرد.

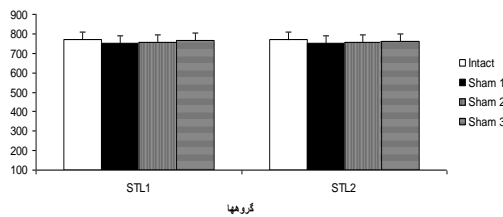
در مرحله سازگاری، حیوان در خانه روشن دستگاه قرار داده، با روشن شدن دستگاه، درب گیوتین باز و حیوان از خانه روشن به خانه تاریک رفت، این کار در 2 مرحله با فاصله زمانی 30 دقیقه از همدیگر جهت سازگاری بیشتر حیوان با دستگاه انجام شد. حیواناتی که بیشتر از 60 ثانیه طول می‌کشید تا به خانه تاریک روند از آزمایش خارج شدند. در مرحله اکتساب یادگیری، عین مرحله سازگاری، حیوان در

برای این گروه نیز، شم جراحی و حامل استرپتوزوتوسین در نظر گرفته شد. در گروه شم جراحی، تمام مراحل جراحی، بدون تزریق داروی استرپتوزوتوسین، انجام شد. در گروه حامل استرپتوزوتوسین، تمام اعمال جراحی، تزریق درون بطنی به جای تزریق داروی استرپتوزوتوسین، از حلال آن، یعنی مایع مغزی نخاعی مصنوعی به‌عنوان حامل (Vehicle) استفاده شد. تمام حیوانات این گروه بعد از 2 هفته از اولین تزریق داروی استرپتوزوتوسین تحت آزمون‌های رفتاری احترازی غیرفعال با دستگاه شاتل باکس قرار گرفت.

آزمون یادگیری احترازی غیر فعال

در آزمون یادگیری احترازی غیرفعال از دستگاه شاتل باکس، ساخت شرکت طب آزما-تبریز استفاده گردید، که شامل دو

آزمون یادگیری احترازی غیرفعال

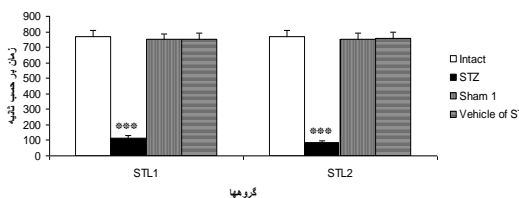


شکل ۲. STL_1 (حافظه کوتاه مدت) و STL_2 (حافظه بلند مدت) ما بین گروه‌های شاهد، شام جراحی اول، شام جراحی دوم و شام جراحی سوم در موش‌های صحرایی نژاد ویستار، تک‌تک ستون‌ها به صورت $SEM \pm Mean$ مربوط به $STL(s)$ ، و هر گروه شامل ۸ موش صحرایی نژاد ویستار می‌باشد.

تأثیر داروی استرپتوزوتوسین بر روی اختلالات حافظه

تأخیر در مرحله ورود از محفظه روشن به محفظه تاریک $STL(s)$ ما بین گروه‌های شاهد، که هیچ نوع دارویی را دریافت نکرده، و تحت تأثیر هیچ نوع عمل جراحی قرار نگرفته‌اند، گروه STZ ، که داروی استرپتوزوتوسین دریافت کرده‌اند، گروه شام جراحی مغز که تمام مراحل جراحی استریوتاکسی بدون دریافت داروی استرپتوزوتوسین، و گروه حامل داروی استرپتوزوتوسین، که در آن مقدار ۱۰ میکرو لیتر مایع مغزی نخاع مصنوعی در هر طرف بطن به صورت دو طرفه با کمک عمل جراحی استریوتاکسی تزریق گردید و نتایج ($STLs$) تمامی گروه‌ها محاسبه و مورد ارزیابی قرار گرفت، نتایج مربوط به مطالعات رفتاری بین گروه STZ و گروه شاهد، تغییرات معنی‌داری $P < 0.001$ را نشان می‌دهد. مقایسه نتایج $STL(s)$ ما بین گروه‌های شام جراحی استریوتاکسی با گروه شاهد و حامل داروی استرپتوزوتوسین، بیانگر عدم وجود تغییرات معنی‌دار می‌باشد (شکل ۳).

آزمون یادگیری احترازی غیرفعال



شکل ۳. STL_1 (حافظه کوتاه مدت) و STL_2 (حافظه بلند مدت) مابین گروه‌های شاهد، STZ (دریافت‌کننده داروی استرپتوزوتوسین)، شام جراحی استریوتاکسی و حامل داروی استرپتوزوتوسین در موش‌های صحرایی نژاد ویستار، تک‌تک ستون‌ها به صورت $SEM \pm Mean$ مربوط به $STL(s)$ ، و هر گروه شامل ۸ موش صحرایی نژاد ویستار است. $Intact$: شاهد، $Sham 1$: شام جراحی استریوتاکسی، STZ : دریافت‌کننده داروی استرپتوزوتوسین، $Vehicle of STZ$: حامل داروی استرپتوزوتوسین

داخل خانه روشن دستگاه قرار داده شد، با روشن شدن دستگاه، درب گیوتین باز و حیوان از خانه روشن به خانه تاریک دستگاه رفته، و درب گیوتین بسته شده و شوک الکتریکی به میزان ۱ میلی آمپر، ۵۰ هرتز، ۳ ثانیه و یک دفعه داده شد.

در مرحله یادآوری، ۲۴ ساعت بعد از مرحله اکتساب یادگیری، حیوان در خانه روشن پشت به درب گیوتین قرار داده شد، درب گیوتین باز شده و مدت زمانی را که طول کشید تا حیوان از خانه روشن به خانه تاریک برود، به وسیله دستگاه بر حسب ثانیه سنجیده شد و تحت عنوان STL_1 (STEP through latency) برای حافظه کوتاه مدت بیان گردید. یک هفته بعد از این مرحله تمام مراحل فوق برای تک‌تک حیوانات تحت آزمایش در گروه‌های مورد نظر تکرار گردید که تحت عنوان STL_2 برای حافظه طولانی مدت نامگذاری شد. زمان اتمام آزمایش (Cut of time) برای STL_1 و STL_2 ، ۹۰۰ ثانیه در نظر گرفته شد، و حیواناتی که بیشتر از ۹۰۰ ثانیه در خانه روشن باقی می‌ماندند، ماکزیمم زمان برای آنها در نظر گرفته شد. تکرار آزمایش برای هر گروه به تعداد اعضای آن گروه، یعنی ۸ مرتبه صورت پذیرفت اطلاعات آماری به وسیله نرم‌افزار Instate تجزیه و تحلیل شد. تمام نتایج بدست آمده دارای $SEM \pm Mean$ بوده و آنالیز آنها به وسیله واریانس یک طرفه صورت گرفت.

تمام تغییرات در محدوده $P < 0.05$ به عنوان تغییرات معنی‌دار در نظر گرفته شد. گروه‌هایی که دارای تغییرات معنی‌دار $P < 0.05$ بوده، دو به دو به وسیله پس آزمون توکی مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

تأثیر جراحی‌ها بر روی اختلالات حافظه (شام‌ها)

در این آزمایش تأخیر در مرحله ورود (STL)، ما بین گروه‌های شاهد ($Intact$)، شام جراحی اول (گروهی از حیوانات که، تمام مراحل عمل جراحی استریوتاکسی، بدون تزریق استرپتوزوتوسین)، شام جراحی دوم (گروهی از حیوانات که، تمام مراحل عمل جراحی گنادکتومی، بدون حذف بیضه‌ها) و شام جراحی سوم (گروهی از حیوانات که، تمام مراحل عمل جراحی استریوتاکسی، بدون تزریق استرپتوزوتوسین، و تمام مراحل عمل جراحی گنادکتومی، بدون حذف بیضه‌ها) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده بیان می‌کند که STL_1 (حافظه کوتاه‌مدت) و STL_2 (حافظه بلند مدت) مربوط به شام‌های جراحی اول، دوم و سوم، نسبت به گروه شاهد تغییر معنی‌داری پیدا نکرد (شکل ۲).

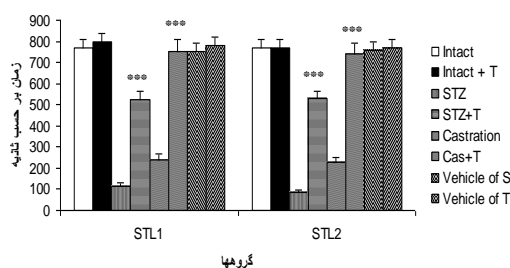
تأثیر جایگزینی تستوسترون بر روی اختلالات حافظه

القاء شده با داروی استرپتوزوتوسین

تاخیر در مرحله ورود از محفظه روشن به محفظه تاریک در دستگاه شاتل باکس (STL) ما بین گروه شاهد، گروه نرمال دریافت‌کننده تستوسترون، گروه دریافت‌کننده استرپتوزوتوسین، گروه دریافت‌کننده تستوسترون آلیامری شده، گروه گنادکتومی، گروه گنادکتومی دریافت‌کننده تستوسترون، گروه حامل داروی استرپتوزوتوسین، گروه حامل استرپتوزوتوسین دریافت‌کننده تستوسترون و گروه حامل تستوسترون، نتایج به صورت هیستوگرام ترسیم و مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج مربوط به مطالعات رفتاری بین گروه شاهد و شاهد دریافت‌کننده تستوسترون، هیچ‌گونه تغییرات معنی‌داری را نشان نمی‌دهد. مقایسه نتایج حاصل از مطالعات رفتاری بین گروه دریافت‌کننده داروی استرپتوزوتوسین با گروه دریافت‌کننده داروی استرپتوزوتوسین که تستوسترون نیز دریافت نموده است، تغییرات معنی‌دار $P < 0.001$ را نشان داد. مقایسه نتایج ما بین گروه گنادکتومی شده با گروه گنادکتومی که تستوسترون نیز دریافت نموده‌اند تغییرات معنی‌دار $P < 0.001$ را نشان داد. مقایسه نتایج ما بین گروه حامل داروی استرپتوزوتوسین با گروه حامل داروی استرپتوزوتوسین تیمار شده با تستوسترون تغییرات معنی‌داری را نشان نداد (شکل ۵).

آزمون یادگیری احترازی غیر فعال



شکل ۵. STL1, 2 ما بین گروه‌های شاهد، شاهد+ تستوسترون،

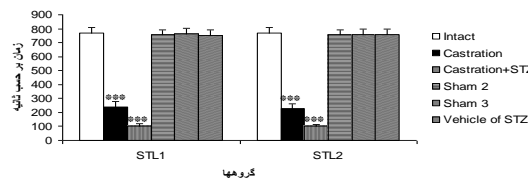
STZ، STZ+T و Cast+T، حامل داروی استرپتوزوتوسین و حامل تستوسترون در موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار تک‌تک گروه‌ها، به صورت $SEM \pm Mean$ مربوط به (STLs)، و هر گروه شامل ۸ موش صحرایی نر، نژاد ویستار می‌باشد.

(Intact: شاهد، STZ: دریافت‌کننده داروی استرپتوزوتوسین، Vehicle of STZ: حامل داروی استرپتوزوتوسین، Castration: گنادکتومی، Vehicle of testosterone: حامل داروی تستوسترون)

تأثیر گنادکتومی بر روی اختلالات حافظه

تاخیر در مرحله ورود از محفظه روشن به محفظه تاریک در دستگاه شاتل باکس ما بین گروه شاهد، گروه گنادکتومی و گروه گنادکتومی دریافت‌کننده استرپتوزوتوسین (گنادکتومی آلیامری شده)، که حیوانات مربوط به این گروه بعد از عمل جراحی گنادکتومی و حذف منبع اصلی تستوسترون، در دو نوبت داروی استرپتوزوتوسین به صورت دو طرفه در درون بطن تزریق گردید، گروه شم جراحی گنادکتومی جهت بررسی تأثیر جراحی بیضه‌ها بر روی اختلالات حافظه که تمام اعمال جراحی گنادکتومی بدون حذف بیضه‌ها صورت گرفت. جهت بررسی تأثیر عمل جراحی بیضه‌ها و عمل جراحی استریوتاکسی بر روی اختلالات حافظه، گروه شم جراحی گنادکتومی بدون حذف بیضه‌ها، توام با شم جراحی استریوتاکسی، بدون دریافت داروی استرپتوزوتوسین انجام شد. در نهایت گروه حامل داروی استرپتوزوتوسین، جهت بررسی تأثیر حلال استرپتوزوتوسین بر روی اختلالات حافظه در موش‌های صحرایی نژاد ویستار، مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج مربوط به مطالعات رفتاری بین گروه گنادکتومی و گروه شاهد تغییرات معنی‌داری $P < 0.001$ را نشان داد. مقایسه نتایج STL(s) ما بین گروه گنادکتومی آلیامری شده با گروه شاهد، تغییرات معنی‌داری $P < 0.001$ را نشان داد. مقایسه نتایج STL(s) ما بین گروه‌های شم جراحی گنادکتومی و شم جراحی گنادکتومی استریوتاکسی شده و گروه حامل داروی استرپتوزوتوسین با گروه شاهد، تغییرات معنی‌داری را نشان نداد (شکل ۴).

آزمون یادگیری احترازی غیر فعال



شکل ۴. STI1 (حافظه کوتاه مدت) و STI2 (حافظه بلند مدت)

ما بین گروه شاهد، گروه گنادکتومی شده، گروه گنادکتومی آلیامری شده، گروه شم جراحی گنادکتومی، گروه شم جراحی گنادکتومی توام با شم جراحی استریوتاکسی و گروه حامل داروی استرپتوزوتوسین در موش‌های صحرایی نژاد ویستار، تک‌تک ستون‌ها، به صورت $SEM \pm Mean$ مربوط به STL(s)، و هر گروه شامل ۸ موش صحرایی نژاد ویستار می‌باشد.

(Intact: شاهد، Sham 1: شم جراحی استریوتاکسی، Sham 3: شم جراحی استریوتاکسی و شم جراحی گنادکتومی، STZ: دریافت‌کننده داروی استرپتوزوتوسین، Vehicle of STZ: حامل داروی استرپتوزوتوسین، Castration: گنادکتومی)

بحث

بیماری آلزایمر، بیماری نورودژنراتیوی است که به علت تخریب نورون‌های مناطق مختلف کورتکس مغزی، خصوصاً نورون‌های کولینرژیک بخش هیپوکامپ و کورتکس مغز جلویی ایجاد می‌گردد. بیماری مذکور با اختلالات حافظه و یادگیری از قبیل اختلال در یادآوری و یادگیری، اختلال در حافظه کوتاه مدت و درازمدت و ... همراه است.

Mayer (1990) از داروی استرپتوزوتوسین، برای اولین بار برای ایجاد مدل آزمایشی بیماری آلزایمر در جوندگان استفاده نمود.

به طوری که استفاده از داروی استرپتوزوتوسین به صورت درون بطنی با دوز ۳ mg/kg، باعث ایجاد مقاومت در برابر ورود گلوکز در مغز حیوان می‌شود، در صورتی که هیچ گونه اثر دیابتی مشاهده نمی‌گردد (Sharma, 2002). با توجه به ساختار شیمیایی STZ، بیان می‌کند که این ترکیب در درون سلول‌های مغزی، رادیکال‌های آزاد، نیتریک اکسید (NO) و پراکسید هیدروژن را به وجود می‌آورد (Shoham, 2003; Skudelski, 2001). تغییرات مربوط به ساختار، نوروشیمیایی و رفتاری را که در ارتباط با علائم بیماری آلزایمر است را ایجاد می‌نماید.

نتایج نشان داد که شم جراحی استریوتاکسی و گنادکتومی و همچنین شم جراحی استریوتاکسی توام با گنادکتومی هیچ گونه تأثیری بر روی اختلالات حافظه در مدل یادگیری احترازی غیرفعال بر روی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار نداشت (شکل ۲)، لذا هرگونه تأثیرات معنی‌دار، مربوط به اثر داروها بر روی حیوانات می‌باشد. همچنین نتایج بیان می‌کند که STL1,2 مربوط به گروه دریافت‌کننده داروی استرپتوزوتوسین، با گروه شاهد کاهش معنی‌دار $P < 0.001$ را نشان داد (شکل ۳). پس داروی استرپتوزوتوسین می‌تواند اختلالات مربوط به حافظه و یادگیری، را در موش‌های صحرایی نر، نژاد ویستار ایجاد نماید لذا در این تحقیق از داروی استرپتوزوتوسین با دوز معین، برای ایجاد اختلالات حافظه و یادگیری استفاده گردید. همچنین نتیجه تجزیه و تحلیل اطلاعات، ما بین گروه حامل داروی استرپتوزوتوسین با گروه شاهد تغییرات معنی‌داری را در STL1,2 نشان نداد (شکل ۳)، که بیانگر عدم تأثیر حلال داروی استرپتوزوتوسین (مایع مغزی نخاعی مصنوعی) در ایجاد اختلالات حافظه و یادگیری می‌باشد. نتایج مجموع گزارشات مربوط به تست یادگیری مدل احترازی غیرفعال، نشان داد که تزریق درون بطنی داروی استرپتوزوتوسین با دوز معین باعث

کاهش معنی‌دار 2، STL1 شده که عامل ایجاد اختلالات یادگیری و حافظه می‌باشد (شکل ۳) (Spritzer, 2001).

مطالعات حیوانی بیان می‌کند که نقش تستوسترون در امر تشخیص و یادگیری بسیار مهم می‌باشد. کاهش آندروژن باعث کاهش معنی‌دار در تراکم سیناپسی هیپوکامپ در جوندگان و پریمات‌های غیر انسانی می‌شود.

نتایج این تحقیق بیان می‌کند که فقدان تستوسترون عامل اصلی کاهش معنی‌دار $P < 0.001$ در 2، STL1 موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار گنادکتومی شده و گنادکتومی آلزایمری شده، نسبت به گروه شاهد می‌باشد (شکل ۴). به نظر می‌رسد که تستوسترون نقش مهمی در بقاء سلول‌های عصبی داشته باشد. لذا تستوسترون، به عنوان فاکتور حفاظت‌کننده نورونی، در جهت ترمیم سلول‌های عصبی، در آسیب‌های نورونی نظیر بیماری آلزایمر می‌باشد.

در این زمینه احتمال بر این است که تستوسترون از طریق مکانیسم مستقیم و اثر بر روی تنظیم هموستازی پروتئین بتا آمیلوئید، نورودژنراسیون را کاهش می‌دهد (Pike, 2009). در این راستا، آندروژن متابولیسم پروتئین بتا آمیلوئید را از طریق مسیر عمومی، نظیر مکانیسم مستقیم وابسته به گیرنده‌های آندروژن انجام می‌دهد. که شامل تنظیم تولید پروتئین بتا آمیلوئید و پاکسازی و حذف آن می‌باشد. البته دی‌هیدروتستوسترون DHT، باعث کاهش پروتئین بتا آمیلوئید در نورون‌های کشت داده شده هیپوکامپی از طریق مکانیسم وابسته به گیرنده‌های آندروژنی می‌شود (Yao, 2008). لازم به توضیح است که تستوسترون هیچ‌گونه تأثیر معنی‌داری در گروه شاهد ایجاد نکرد، پس تستوسترون، بالاتر از حد فیزیولوژیکی بدن در افزایش حافظه و یادگیری دخالت ندارد (شکل ۵). از طرف دیگر در این میان مطالعات ضد و نقیض، وجود دارد که بیان می‌کنند، تستوسترون هیچ‌گونه تأثیری در بهبود، اختلالات حافظه و یادگیری ندارد (Gibbs, 2008; Hebert, 2003). با توجه به نتایج ضد و نقیض، در رابطه با نقش تستوسترون در بهبود اختلالات حافظه و یادگیری، مطالعه حاضر و نتایج برگرفته از آن، تأثیر تستوسترون بر روی بهبود اختلالات حافظه و یادگیری را حمایت می‌نماید. چون که تستوسترون درمانی در موش‌های صحرایی گنادکتومی شده و موش‌های صحرایی دریافت‌کننده داروی استرپتوزوتوسین نسبت به گروه‌های گنادکتومی شده و دریافت‌کننده استرپتوزوتوسین، افزایش معنی‌داری را در STL1,2 نشان داد (شکل ۵).

حفاظت نورونی، و ایجاد بهبودی، در ارتباط با اختلالات حافظه و یادگیری، که به دنبال صدمات مغزی و نورونی بیماری‌های نورودژنراتیو نظیر بیماری آلزایمر ایجاد می‌شوند استفاده نمود. از این گذشته برای احقاق این فرضیه نیازمند به مطالعات کلینیکالی می‌باشد، تا بتوان از این هورمون در جهت کاهش اثرات بیماری آلزایمر استفاده نمود.

سپاسگزاری

از مساعدت‌های بهینه مرکز علوم و تحقیقات دارویی و دانشکده داروسازی علوم پزشکی دانشگاه تبریز در راستای حمایت از این تحقیق تشکر و قدردانی می‌نمایم.

REFERENCES

- Białek M, Zaremba P, Borowicz K (2004) Neuroprotective role of testosterone in the nervous system. *Polish Journal of Pharmacology*, 56: 509–518.
- Emmelot-Vonk MH, Verhaar HJJ, Pour HRN (2008) Effect of testosterone supplementation on functional mobility, cognition, and other parameters in older men. *Journal of Medical. Assoc*, 299: 39–52.
- Esteban-Santillan C, Praditsuwan R, Ueda H (1998) Clock drawing test in very mild Alzheimer's disease. *J Am Geriatr Soc*, 46:1266-1269.
- Falkenstein E, Tillman HC, Christ M (2000) Multiple actions of steroid hormones a focus on rapid, nongenomic effects. *Pharmacological Reviews*, 52: 513–555.
- Gibbs RB, Johnson DA (2008) Sex-specific effects of gonadectomy and hormone treatment on acquisition of a 12-arm radial maze task by Sprague Dawley rats. *Endocrinology*, 149: 3176–3183.
- Hardy J, Selkoe DJ (2002) The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *Science*, 297: 353-356.
- Hasegawa N, Mochizuki M (2009) Improved effect of pycnogenol on impaired spatial memory function in partial androgen deficiency rat model. *Phytother. Res*, 23:840–843.
- Hebert LE, Scherr PA, Bienias JL (2003) Alzheimer disease in the US population: prevalence estimates using the 2000 Census. *Arch Neurol*, 60: 1119-1122.
- Janowsky JS, Oviatt SK, Orwill ES (1994) Testosterone influences spatial cognition in older men. *Behav. Neurosci*, 2:325–332.
- Kirk A, Kertesz A (1991) On drawing impairment in Alzheimer's disease. *Arch Neurol*, 48:73-77.
- Martini L, Melcangi RC, Maggi R (1993) Androgen and progesterone metabolism in the central and peripheral nervous system. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 47:195-205.
- Mayer G, Nitsch R, Hoyer S (1990) Effects of changes in peripheral and cerebral glucose metabolism on locomotor activity, learning and memory in adult male rats. *Brain Res*, 532: 95–100.
- Moffat SD, Zonderman AB, Metter EJ (2002) Longitudinal assessment of serum free testosterone concentration predicts memory performance and cognitive status in elderly men. *J Clin Endocrinol Metab*, 87: 5001-5007.
- Patchev VK, Schroeder J, Goetz F (2004) Neurotropic action of androgens: principles, mechanisms and novel targets. *Exp Gerontol*, 39: 1651-1660.
- Paxinos G, Watson C (1986) *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 2nd ed. San Diego: Academic Press, 24: 56-83.
- Pike CJ, Nguyen TV, Ramsden M (2008) Androgen cell signaling pathways involved in neuroprotective actions. *Horm Behav*, 53: 693-705.
- Pike CJ, Carroll JC, Rosario E (2009) Protective actions of sex steroid hormones in Alzheimer's disease. *Front Neuroendocrinol*, 30: 239-258.
- Price BH, Gurvit H, Weintraub S (1993)

نتیجه‌گیری کلی

نتایج ما در این تحقیق نشان داد که عمل جراحی گنادکتومی و حذف بیضه‌ها که منبع اصلی تولیدکننده هورمون جنسی تستوسترون می‌باشد، باعث ایجاد اختلالات حافظه و یادگیری گردید از طرف دیگر، نتایج بدست آمده، نشان می‌دهد که تستوسترون با توجه به نقش حفاظت‌کننده نورونی می‌تواند اختلالات مربوط به حافظه و یادگیری را بعد از صدمات مغزی و نورونی، بهبود بخشد و 2، 1 STL مربوط به مدل یادگیری احترازی غیرفعال را در موش‌های صحرائی نر نسبت به گروه‌های گنادکتومی، و آلزایمری به صورت معنی‌دار $P < 0.001$ افزایش دهد. لذا می‌توان از تستوسترون به عنوان عامل مؤثر به صورت کلینیکالی در جهت افزایش

- Neuropsychological patterns and language deficits in 20 consecutive cases of autopsy-confirmed Alzheimer's disease. *Arch Neurol*, 50: 931-937.
- Rosario ER, Chang L, Stanczyk FZ (2004) Age-related testosterone depletion and the development of Alzheimer disease. *JAMA*, 292: 1431-1452.
- Sharma M, Gupta YK (2002) Chronic treatment with trans resveratrol prevents intracerebroventricular streptozotocin induced cognitive impairment and oxidative stress in rats. *Life Sci*, 71(21): 2489-2498.
- Shoham S, Bejar C, Kovalev E, Weinstock M (2003) Intracerebroventricular injection of streptozotocin causes neurotoxicity to myelin that contributes to spatial memory deficits in rats. *Exp Neurol*, 184: 1043-1052.
- Spritzer MD, Daviau ED, Coneeny MK, Engelman SM, Prince WT, Rodriguez-Wisdom KN (2011) Effects of testosterone on spatial learning and memory in adult male rats. *Horm Behav*, 59: 484-496.
- Spritzer MD, Gill M, Weinberg A (2008) Castration differentially affects spatial working and reference memory in male rats. *Archiv. Sex. Behav*, 37: 19-29.
- Szkudelski T (2001) The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res*, 50: 336-346.
- Yao M, Nguyen TV, Rosario ER (2008) Androgens regulate neprilysin expression: role in reducing betaamyloid levels. *J Neurochem*, 105: 2477-2488.