

مجله علمی - پژوهشی زیست شناسی جانوری تجربی
سال اول، شماره دوم، پائیز ۱۳۹۱ (۱۱-۱)

نقش گیرنده های آندروژنی بر روی اختلالات حافظه و یادگیری در موش های صحرایی نر بالغ

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

۱: گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات
فارس، ایران
۲: گروه داروشناسی و سم شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه
تبریز، تبریز ۵۱۶۶۴، ایران
۳: گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات
فارس، ایران

چکیده

هورمون های جنسی خصوصاً تستوسترون دارای اثر محافظتی بر روی نورونهای مغزی در بیماری های نورودژنراتیو نظیر بیماری آلزایمر می باشند. مطالعه حاضر اثر مهم و برجسته تستوسترون و گیرنده های آندروژنی را بر روی اختلالات حافظه که به وسیله تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین ایجاد شده است، نشان می دهد. در این تحقیق حیوانات به صورت تصادفی به ۱۱ گروه تقسیم گردید. مدل آزمایشی بیماری آلزایمر به وسیله تزریق دو طرفه درون بطنی داروی استرپتوزوتوسین صورت گرفت، و دو هفته بعد از اولین تزریق داروی مذکور، حیوانات با استفاده از آزمون یادگیری احترازی غیر فعال مورد بررسی قرار گرفتند، به طوری که فاصله زمانی ما بین ورود حیوان از خانه روشن به خانه تاریک دستگاه بر حسب ثانیه اندازه گیری شد و تحت عنوان تاخیر در مرحله ورود (STL) نام گذاری گردید. در گروه گنادکتومی، عمل جراحی حذف بیضه ها 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 استرپتوزوتوسین، اختلالات حافظه را به صورت معنی دار $P<0.001$ ایجاد نمود. حافظه در موشهای صحرایی گنادکتومی شده به صورت معنی دار $P<0.001$ در مقایسه با موش های نرمال و شم ها کاهش یافت. درمان جایگزین با تستوسترون، حافظه را به سطح موش های نرمال رسانید. جالب توجه این که تستوسترون هیچ گونه اثر مشخص و معنی دار بر روی حافظه

موشهای صحرایی نرمال نداشت. مجموع تمام نتایج در این مقاله نشان داد که تستوسترون اختلالات حافظه مربوط به بیماری آلزایمر را بهبود بخشد.
واژه های کلیدی: تستوسترون-حافظه -
بیماری آلزایمر استرپتوزوتوسین- موش
صحرایی

نویسنده مسئول*: سید رضا پورربی
pourrabie@gmail.com

Role of the androgen receptors in memory impairment in mature male rats

S.R.Pourrabi¹, A.R. Mohajjel Nayeibi² and S.E. Hossini³

1-Department of biology, Science and Research Branch,
Islamic Azad University, Fars, Iran

2-Department of pharmacology and toxicology, Tabriz
University of Medical Sciences, Tabriz 51664, Iran

3- Department of Biology, Science and Research Branch,
Islamic Azad University, Fars, Iran

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

گیرد (Falkenstein E, 2000). تنظیم فعالیت گیرنده های آندروژنی و ترجمه mRNA و حفاظت از گیرنده های آندروژنی در بافت های مختلف بدن نظیر بافت مغزی به وسیله هورمون آندروژن صورت می گیرد (Bialek M, 2004, Patchev VK, 2004). در سلول های عصبی و گلیائی کورتکس مناطق مختلف مغز، خصوصاً در هیپوتالاموس، تالاموس، هیپوکامپ و آمیگدال، گیرنده های آندروژنی وجود دارند که به خوبی از دیگر گیرنده ها قابل تفکیک می باشند (Moffat SD, 2002). در طول عمر موجود، آندروژن ها، در تعدادی از عملکرد های حیاتی بدن شرکت می نمایند. تستوسترون در دوران پیش از تولد و هم چنین پس از تولد در تغییرات نوروئی و ارگانیزاسیون نوروئی و گلیائی دخالت می کند و از مشخصات کلینیکی مغزی در این زمینه اختلالات در تشخیص نظیر، کاهش کارایی حافظه ای که وابسته به کورتکس پیشانی و کاهش حافظه طولانی مدت وابسته به هیپوکامپ و دیگر مناطق تمپورال مغز میانی دیده می شود (Price BH, 1993). آندروژن ها، 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 بیماری های نورودژنراتیو و صدمات مغزی نظیر بیماری آلزایمر و پارکینسون و هانتینگتون می شود (Rosario ER, 2004). سطح تستوسترون مغزی در افراد مبتلا به بیماری آلزایمر پیشرفته به صورت معنی داری کاهش یافته، که نشانه پیشروی بیماری نورودژنراتیو آلزایمر می باشد (Emmelot-Vonk MH, 2008). نتایج مطالعات کلنیکالی، اثرات درمانی

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

مقدمه

بیماری آلزایمر جزء بیمارهای نورودژنراتیو مربوط به افراد مسن بوده که در آنها اختلالات حافظه (Price BH, Gurvit H and Weintraub S, 1993)، سرکوب زبان (Esteban-Santillan C, 1998)، اختلالات بینائی فضائی (Kirk A and Kertesz A, 1991) و ناتوانی های حسی و حرکتی (Hardy J, Selkoe DJ, 2002) دیده می شود. این بیماری در نتیجه تجمع و افزایش پروتئین بتا آمیلوئید به وجود می آید

(Melcangi RC and Martini L, 1993). از نظر پاتوژنز بیماری آلزایمر، با به وجود آمدن پلاک های مغزی که نتیجه رسوب پروتئین های بتا آمیلوئید، و دیستروفی سلول های عصبی در مناطق انتهائی نئوکورتیکال و دیگر مناطق مغزی، مشخص می شود. از طرف دیگر تشکیل تانگل های نوروئی در مناطق میانی لوب گیجگاهی، عامل از بین رفتن نورونهای مغزی بوده، که در ایجاد و پیشروی بیماری آلزایمر بسیار مهم می باشد (Kirk A, Kertesz A, 1991). مغز به عنوان بافت هدف مناسب برای آندروژن ها بوده که دارای گیرنده های زیادی برای آنها می باشد (Pike CJ, 2008, Spritzer MD, 2008). فعالیت گیرنده های آندروژنی بر روی نوروئی ها و سلول های گلیائی در مناطق حساس به آندروژن در درون مغز صورت می

محلول در مایع مغزی نخاعی مصنوعی مورد استفاده قرار گرفت. در این تحقیق، ۸۸ موش صحرایی 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 روشنایی، و دمای $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ، با آب و غذای کافی نگهداری شدند. تمام آزمایشات تحت شرایط استاندارد و استریل در آزمایشگاه علوم پزشکی دانشگاه تبریز، دانشکده داروسازی انجام شد.

عمل جراحی گنادکتومی (Castration)

حیوانات با تزریق درون صفاقی ۶ میلی گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن کتامین و ۶۰ میلی گرم 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 ۱/۵ سانتی متر از منطقه میان اسکروتوم با تیغ جراحی برش داده شد، و بیضه ها به صورت دو طرفه از مکان برش بیرون آورده شده، و از منطقه بالای اپی دیدیم با نخ بخیه سیلک ۰/۴ بسته و بیضه ها خارج شدند. در نهایت محل برش با نخ جراحی، بخیه شد. در گروه شم جراحی تمام اعمال جراحی بدون بیرون آوردن بیضه ها انجام شد. مطالعات رفتاری برای این گروه ۴ هفته بعد از عمل جراحی انجام گردید.

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

تستوسترون، بر روی رفتار های تشخیص و حافظه را در بین افراد مسن به صورت مختلف بیان می کند، که در این زمینه، نتایج چندین مطالعه نشان می دهد که تستوسترون، توانایی حافظه فضایی افراد مسن را بهبود می بخشد (Hasegawa N, 2009, Janowsky JS, 1994). همچنین نتایج مطالعات بروی حیوانات، که تست های رفتاری arm maze, T-maze انجام شده همین موضوع را تصدیق می نماید (Rosario ER, 2004). در صورتی که، تعدادی از مطالعات نشان می دهد جایگزین تستوسترون، حافظه فضایی را در موشهای صحرایی گنادکتومی شده در تست arm maze به حد نرمال بر نمی گرداند (Gibbs RB, 2008, Hebert LE, 2003). از طرف دیگر هیچ گونه 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 غیر فعال سنجیده شده باشد وجود نداشته، فلذا این مسئله نیازمند آزمایشات متعددی است. بنابر این در این مطالعه، تاثیر تستوسترون و گیرنده های آندروژنی را در اختلالات حافظه، مدل بیماری آلزایمر که به وسیله داروی استرپتوزوتوسین ایجاد شده است را با استفاده از آزمون یادگیری احترازی غیر فعال مورد توجه قرار می گیرد.

مواد و روشها

به جزء تستوسترون انانتئات که از داروپخش (تهران- ایران) است بقیه مواد شیمیایی از سیگما تهیه شد. تمام مواد محلول به صورت تازه و روزانه تهیه گردید. تستوسترون محلول در روغن گرچک و استرپتوزوتوسین

تمام حیوانات این گروه بعد از ۲ هفته از اولین تزریق داروی استرپتوزوتوسین تحت آزمون های رفتاری احترازی غیر فعال با دستگاه شاتل باکس قرار گرفت.

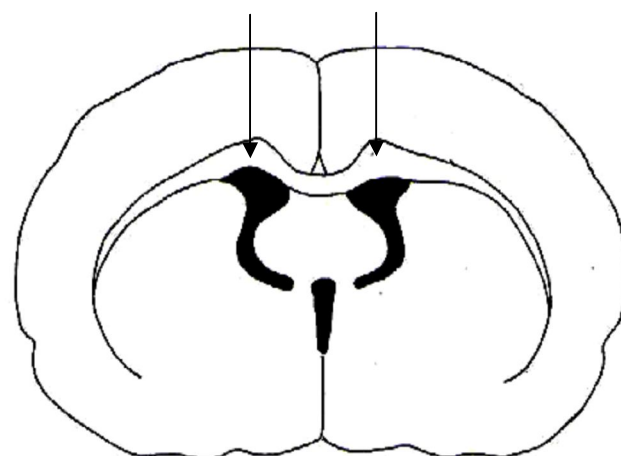
آزمون یادگیری احترازی غیر فعال

در آزمون یادگیری احترازی غیر فعال از دستگاه شاتل باکس، ساخت شرکت طب آزما- تبریز استفاده گردید، که شامل دو محفظه، روشن و تاریک که به وسیله درب گیوتین از هم جدا می شد. در کف دستگاه، میله های استیلی وجود دارند که به وسیله آن، جریان الکتریکی (عامل شوک) عبور داده می شد. در ارتباط با تست های رفتاری ۳ مرحله مشخص و جدا از هم در نظر گرفته شد که می توان 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 ۲ مرحله با فاصله زمانی ۳۰ دقیقه از همدیگر جهت سازگاری بیشتر حیوان با دستگاه انجام شد. حیواناتی که بیشتر از ۶۰ ثانیه طول میکشید تا به خانه تاریک روند از آزمایش خارج شدند. در مرحله اکتساب یادگیری، عین مرحله سازگاری، حیوان در 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

وسیله تیغ جراحی شیار طولی به اندازه ۱ سانتی متر در پوست بالای سر ایجاد شد. بعد از مشخص کردن منطقه برگما، با کمک اطلس استریوتاکس (۱۸)، $AP = -0.84mm$ از منطقه برگما، $ML = \pm 1/6mm$ به صورت دو طرفه و $DV = 3.4mm$ مشخص، و در نهایت حجمه از این منطقه سوراخ گردید (شکل ۱). به کمک میکروابنجهکشین با سرنگ هیلتون با سرعت ۰/۲ میکرو لیتر در دقیقه داروی استرپتوزوتوسین با دوز ۳ میلی گرم بر هر کیلوگرم وزن بدن در ۱۰ میکرو لیتر مایع مغزی نخاعی مصنوعی به صورت دو طرفه در روز های اول و سوم با فاصله ۷۲ ساعت از هم تزریق گردید.

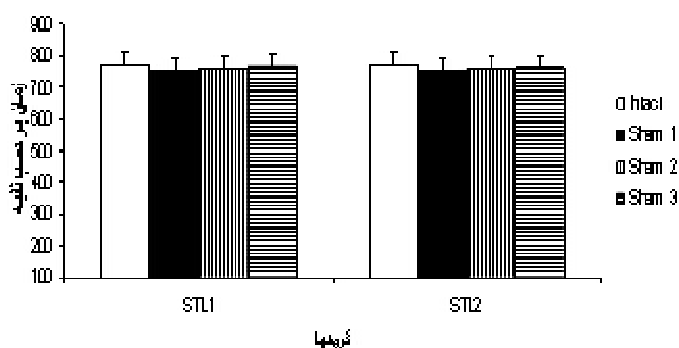


شکل ۱- تزریق داروی استرپتوزوتوسین به درون بطنهای راست و چپ

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 به عنوان حامل (Vehicle) استفاده شد.

بدون تزریق استرپتوزوتوسین)، شم جراحی دوم (گروهی از حیوانات که، تمام مراحل عمل جراحی گنادکتومی، بدون حذف بیضه ها) و شم جراحی سوم (گروهی از حیوانات که، تمام مراحل عمل جراحی استریوتاکسی، بدون تزریق استرپتوزوتوسین، و تمام مراحل عمل جراحی گنادکتومی، بدون حذف بیضه ها) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده بیان می کند که STL1 (حافظه کوتاه مدت) و STL2 (حافظه بلند مدت) مربوط به شمای جراحی اول، دوم و سوم، نسبت به گروه شاهد تغییر معنی داری پیدا نکرد (شکل ۲).

میان برداری اختلالی غریزی



شکل ۲- STL1 (حافظه کوتاه مدت) و STL2 (حافظه بلند مدت) ما بین گروههای شاهد، شم جراحی اول، شم جراحی دوم، شم جراحی سوم در موشهای صحرایی نر نژاد ویستار، هر تک تک ستونها به صورت $Mean \pm SEM$ مربوط به STL(s) و هر گروه شامل ۸ موش صحرایی نر نژاد ویستار می باشد.

تاثیر داروی استرپتوزوتوسین بر روی اختلالات حافظه

تاخیر در مرحله ورود از محفظه روشن به محفظه تاریک (STL(s) ما بین گروه های شاهد، که هیچ نوع دارویی را دریافت نکرده، و تحت تاثیر هیچ نوع عمل جراحی قرار

را 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 STL1 (STP through latency) برای حافظه کوتاه مدت بیان گردید. یک هفته بعد از این مرحله تمام مراحل فوق برای تک تک حیوانات تحت آزمایش در گروه های مورد نظر تکرار گردید که تحت عنوان STL2 برای حافظه طولانی مدت نام گذاری شد. زمان اتمام آزمایش (Cut of time) برای STL1 و STL2، ۹۰۰ ثانیه در نظر گرفته شد، و حیواناتی که بیشتر از ۹۰۰ ثانیه در خانه روشن باقی می ماندند، 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 نرم افزار Instate تجزیه و تحلیل شد. و تمام نتایج بدست آمده دارای $Mean \pm SEM$ بوده و آنالیز آنها به وسیله واریانس یک طرفه صورت گرفت.

تمام تغییرات در محدوده $P < 0.05$ به عنوان تغییرات معنی دار در نظر گرفته شد. و گروه هائی که دارای تغییرات معنی دار $P < 0.05$ بوده، دو به دو به وسیله پس آزمون توکی مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج:

تاثیر جراحی ها بر روی اختلالات حافظه (شما)

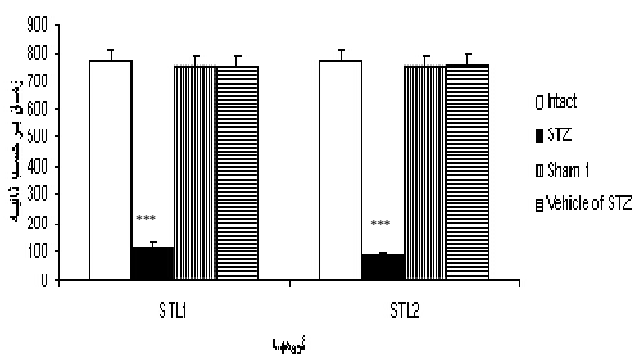
در این آزمایش تاخیر در مرحله ورود (STL)، ما بین گروه های شاهد (Intact)، شم جراحی اول (گروهی از حیوانات که، تمام مراحل عمل جراحی استریوتاکسی،

شامل باکس ما بین گروه شاهد، گروه گنادکتومی و گروه گنادکتومی دریافت کننده استرپتوزوتوسین (گنادکتومی آلزایمری 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 تاثیر جراحی بیضه ها بر روی اختلالات حافظه که تمام اعمال جراحی گنادکتومی بدون حذف بیضه ها صورت گرفت. جهت بررسی تاثیر عمل جراحی بیضه ها و عمل جراحی استریوتاکسی بر روی

اختلالات حافظه، گروه شم جراحی گنادکتومی بدون حذف بیضه ها، توام با شم جراحی استریوتاکسی، بدون دریافت داروی استرپتوزوتوسین انجام شد. در نهایت گروه حامل داروی استرپتوزوتوسین، جهت بررسی تاثیر حلال استرپتوزوتوسین بر روی اختلالات حافظه در موش های صحرایی نژاد ویستار، مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج مربوط به مطالعات رفتاری بین گروه گنادکتومی و گروه شاهد تغییرات معنی داری $P<0.001$ را نشان داد. مقایسه نتایج STL(s) ما بین گروه گنادکتومی آلزایمری شده با گروه شاهد، تغییرات معنی داری $P<0.001$ را نشان داد. مقایسه نتایج STL(s) ما بین گروه های شم جراحی گنادکتومی و شم جراحی گنادکتومی استریوتاکسی شده و گروه حامل داروی استرپتوزوتوسین با گروه شاهد، تغییرات معنی داری را نشان نداد (شکل ۴).

نگرفته اند، گروه STZ، که داروی استرپتوزوتوسین دریافت کرده اند، گروه شم 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 معنی داری $P<0.001$ را نشان می دهد. مقایسه نتایج STL(s) ما بین گروه های شم جراحی استریوتاکسی با گروه شاهد و حامل داروی استرپتوزوتوسین، بیانگر عدم وجود تغییرات معنی دار می باشد (شکل ۳).

آزمون یادگیری اخلال غیر فعال



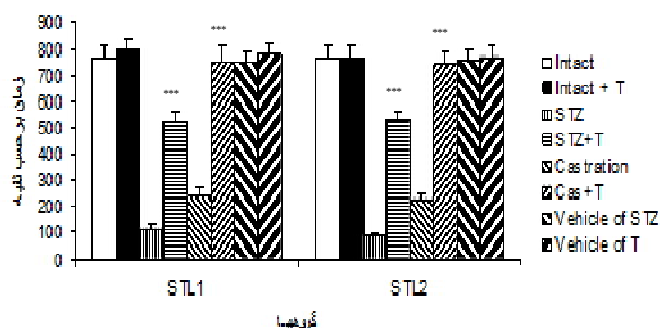
شکل ۳- STL1 (حافظه کوتاه مدت) و STL2 (حافظه بلند مدت) ما بین گروههای شاهد، STZ (دریافت کننده داروی استرپتوزوتوسین)، شم جراحی استریوتاکسی و حامل داروی استرپتوزوتوسین در موش های صحرایی نژاد ویستار، هر تک تک ستون ها به صورت $\pm$ Mean SEM مربوط به STL(s)، و هر گروه شامل ۸ موش صحرایی نژاد ویستار است.

تاثیر گنادکتومی بر روی اختلالات حافظه

تاخیر در مرحله ورود از محفظه روشن به محفظه تاریک در دستگاه

کننده تستوسترون، هیچ گونه تغییرات معنی داری را نشان نمی دهد. مقایسه نتایج حاصل از مطالعات رفتاری بین گروه دریافت کننده داروی استرپتوزوتوسین با گروه دریافت کننده داروی استرپتوزوتوسین که تستوسترون نیز دریافت نموده است، تغییرات معنی دار $P < 0.001$ را نشان داد. مقایسه نتایج ما بین گروه گناداکتومی شده با گروه گناداکتومی که تستوسترون نیز دریافت نموده اند تغییرات معنی دار $P < 0.001$ را نشان داد. مقایسه نتایج ما بین گروه حامل داروی استرپتوزوتوسین تیمار شده با تستوسترون تغییرات معنی داری را نشان نداد (شکل ۵).

آزمون یادگیری احترازی غیر فعال

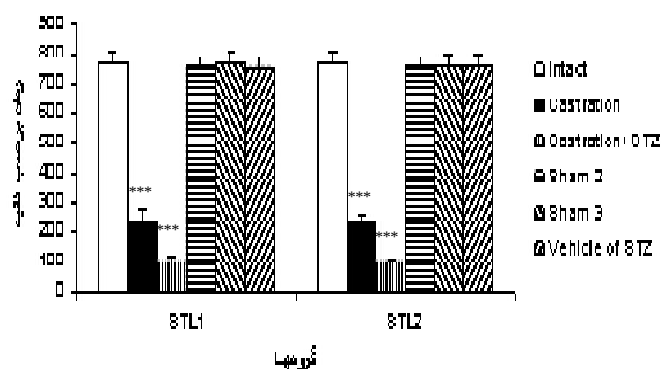


شکل ۵ - STL1,2 ما بین گروه های شاهد، شاهد+ تستوسترون، STZ، STZ+T و Cast، Cast+T حامل داروی استرپتوزوتوسین و حامل تستوسترون در موشهای صحرایی نر نژاد ویستار تک تک گروه ها، به صورت $\pm$ Mean SEM مربوط به (STLs)، و هر گروه شامل ۸ موش صحرایی نر، نژاد ویستار می باشد.

بحث:

بیماری آلزایمر، بیماری نورودژنراتیوی است که به علت تخریب نورون های مناطق مختلف کورتکس مغزی، خصوصا نورون های کولینرژیک بخش هیپوکامپ و کورتکس

آزمون یادگیری احترازی غیر فعال



شکل ۴ - STL1 (حافظه کوتاه مدت) و STL2 (حافظه بلند مدت) ما بین گروه شاهد، گروه گناداکتومی شده، گروه گناداکتومی آلزایمری شده، گروه شم جراحی گناداکتومی، گروه شم جراحی استریوتاکی و گروه حامل داروی استرپتوزوتوسین در موش های صحرایی نژاد ویستار، تک تک ستون ها، به صورت $\pm$ Mean SEM مربوط به STL(s)، و هر گروه شامل ۸ موش صحرایی نژاد ویستار می باشد.

تاثیر 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 دریافت کننده تستوسترون، گروه دریافت کننده استرپتوزوتوسین، گروه دریافت کننده تستوسترون آلزایمری شده، گروه گناداکتومی، گروه گناداکتومی دریافت کننده تستوسترون، گروه حامل داروی استرپتوزوتوسین، گروه حامل استرپتوزوتوسین دریافت کننده 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 دریافت

مغز جلوئی ایجاد می گردد. بیماری مذکور با اختلالات حافظه و یادگیری از قبیل اختلال در یاد آوری و یادگیری، اختلال در حافظه کوتاه مدت و درازمدت و ... همراه است.

Mayer در سال ۱۹۹۰ از داروی استرپتوزوتوسین، برای اولین بار برای ایجاد مدل آزمایشی بیماری آلزایمر در جوندگان استفاده نمود (Mayer G, 1990).

به طوری که استفاده از داروی استرپتوزوتوسین به صورت درون بطنی با دوز 3 mg/kg، باعث ایجاد مقاومت در برابر ورود گلوکز در مغز حیوان می شود، در صورتی که هیچ گونه اثر دیابتی مشاهده نمی گردد (Sharma M, 2002). با توجه به ساختار شیمیایی STZ، بیان می کند که این ترکیب در درون سلول های مغزی، رادیکال های آزاد، نیتریک اکسید (No) و پراکسید هیدروژن را به وجود می آورد (Shoham S, 2003,) (Szkudelski T. 2001). و تغییرات مربوط به ساختار، نورو شیمیایی و رفتاری را که در ارتباط با علائم بیماری آلزایمر است را ایجاد می نماید.

نتایج نشان داد که شم جراحی استریوتاکسی و گنادکتومی و هم چنین شم جراحی استریوتاکسی توام با گنادکتومی هیچ گونه تاثیری بر روی اختلالات حافظه در مدل یادگیری احترازی غیر فعال بر روی موشهای صحرایی نر نژاد ویستار نداشت (شکل ۲)، لذا هر گونه تاثیرات معنی دار، مربوط به اثر دارو ها بر روی حیوانات می باشد. همچنین نتایج بیان می کند که

STL1,2 مربوط به گروه دریافت کننده داروی استرپتوزوتوسین، با گروه شاهد کاهش معنی دار ***
P<0.001 را نشان داد (شکل ۳). پس داروی استرپتوزوتوسین می تواند

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 معنی داری را در STL1,2 نشان نداد (شکل ۳)، که بیانگر عدم تاثیر حلال داروی استرپتوزوتوسین (مایع مغزی نخاعی مصنوعی) در ایجاد اختلالات حافظه و یادگیری می باشد. نتایج مجموع گزارشات مربوط به تست یادگیری مدل احترازی غیر فعال، نشان داد که تزریق درون بطنی داروی استرپتوزوتوسین با دوز معین باعث کاهش معنی دار STL1,2 شده که عامل ایجاد اختلالات یادگیری و حافظه می باشد. (شکل ۳) (Spritzer MD 2011).

مطالعات حیوانی بیان می کند که نقش تستوسترون در امر تشخیص و یادگیری بسیار مهم می باشد. کاهش آندروژن باعث کاهش معنی دار در تراکم سیناپسی هیپوکامپ در جوندگان و پریمات های غیر انسانی می شود.

نتایج این تحقیق بیان می کند که فقدان تستوسترون عامل اصلی کاهش معنی دار P<0.001 *** در STL1,2 موشهای صحرایی نر نژاد ویستار گنادکتومی شده و گنادکتومی آلزایمری شده، نسبت به گروه شاهد می باشد (شکل ۴). به نظر میرسد که تستوسترون نقش مهمی در بقاء سلولهای عصبی داشته باشد. لذا تستوسترون، به عنوان فاکتور حفاظت کننده نورونی، در جهت ترمیم سلولهای عصبی، در آسیب های نورونی نظیر بیماری آلزایمر می باشد.

نتیجه گیری کلی:

نتایج ما در این تحقیق نشان داد که عمل جراحی گنادکتومی و حذف بیضه ها که منبع اصلی تولید کننده هورمون جنسی تستوسترون می باشد، باعث ایجاد اختلالات حافظه و یادگیری گردید از طرف دیگر، نتایج بدست آمده، نشان می دهد که تستوسترون با توجه به نقش حفاظت کننده نوروئی می تواند اختلالات مربوط به حافظه و یادگیری را بعد از صدمات مغزی و نوروئی، بهبود بخشد و $STL_{1,2}$ مربوط به مدل یادگیری احترازی غیر فعال را در موشهای صحرایی نر نسبت به گروه های گنادکتومی، و آلزایمری به صورت معنی دار $P < 0.001$ *** افزایش دهد. لذا می توان از تستوسترون به عنوان عامل موثر به صورت کلینیکالی در جهت افزایش حفاظت نوروئی، و ایجاد بهبودی، در ارتباط با اختلالات حافظه و یادگیری، که به دنبال صدمات مغزی و نوروئی بیماری های نورودژنراتیو نظیر بیماری آلزایمر ایجاد می شوند استفاده نمود. از این گذشته برای احقاق این فرضیه نیازمند به مطالعات کلینیکالی می باشد، تا بتوان از این هورمون در جهت کاهش اثرات بیماری آلزایمر استفاده نمود.

تشکر و قدردانی:

از مساعدت های بهینه مرکز علوم و تحقیقات داروئی و دانشکده داروسازی علوم پزشکی دانشگاه تبریز در راستای حمایت از این تحقیق تشکر و قدردانی می نمایم.

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 می دهد (Pike CJ, 2009). در این راستا، آندروژن متابولیسم پروتئین بتا آمیلوئید را از طریق مسیر عمومی، نظیر مکانیسم مستقیم وابسته به گیرنده های آندروژن انجام می دهد. که شامل تنظیم تولید پروتئین بتا آمیلوئید و پاکسازی و حذف آن می باشد. البته دی هیدرو تستوسترون DHT، باعث کاهش پروتئین بتا آمیلوئید در نرون های کشت داده شده هیپوکامپی از طریق مکانیسم وابسته به گیرنده های آندروژنی می شود (Yao M, 2008). لازم به توضیح است که تستوسترون هیچ گونه تاثیر معنی داری 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 می کنند، تستوسترون هیچ گونه تاثیری در بهبود، اختلالات حافظه و یادگیری ندارد (Gibbs RB, 2008, Hebert LE, 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، تاثیر تستوسترون بر روی بهبود اختلالات حافظه و یادگیری را حمایت می نماید. چون که تستوسترون درمانی در موشهای صحرایی گنادکتومی شده و موشهای صحرایی دریافت کننده داروی استرپتوزوتوسین نسبت به گروه های گنادکتومی شده و دریافت کننده استرپتوزوتوسین، افزایش معنی داری را $P < 0.001$ *** در $STL_{1,2}$ نشان داد (شکل ۵).

REFERENCES:

- Bialek M, Zaremba P and Borowicz K (2004); Neuroprotective role of testosterone in the nervous system. Polish Journal of Pharmacology.; 56: 509–518.
- Emmelot-Vonk MH, Verhaar HJJ and 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 and Ueda H (1998); Clock drawing test in very mild Alzheimer's disease. J Am Geriatr Soc.; 46:1266-1269.
- Falkenstein E, Tillman H C and Christ M (2000); Multiple actions of steroid hormones a focus on rapid, nongenomic effects. Pharmacological Reviews.; 52: 513–555.
- Gibbs RB and 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 and Selkoe DJ (2002); The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. Science.; 297:353-356.
- Hasegawa N and 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 and Bienias JL (2003); Alzheimer disease in the US population: prevalence estimates using the 2000 Census. Arch Neurol.; 60: 1119-1122.
- Janowsky JS, Oviatt SK and Orwll 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 and 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 and 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 and 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 and Goetz F (2004) Neurotropic action of androgens: principles, mechanisms and novel targets. Exp Gerontol.; 39:1651-1660.
- Paxinos G and Watson C (1986); The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. 2 ed. San Diego: Academic Press.; 24: 56-83.
- Pike CJ, Nguyen TV and Ramsden M (2008); Androgen cell signaling pathways involved in neuroprotective actions. Horm Behav.; 53:693-705.

- Pike CJ., Carroll JC and Rosario E (2009); Protective actions of sex steroid hormones in Alzheimer's disease. *Front Neuroendocrinol.*; 30:239-258.
- Price BH, Gurvit H and Weintraub S (1993); Neuropsychological patterns and language deficits in 20 consecutive cases of autopsy-confirmed Alzheimer's disease. *Arch Neurol.*; 50: 931-937.
- Rosario ER, Chang L and Stanczyk FZ (2004); Age-related testosterone depletion and the development of Alzheimer disease. *JAMA.*; 292: 1431-1452.
- Sharma M and 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 and 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, Gill M and Weinberg A (2008); Castration differentially affects spatial working and reference memory in male rats. *Archiv. Sex. Behav.*; 37:19-29.
- Spritzer MD, Daviau ED, Coneeny MK, Engelman SM, Prince WT and Rodriguez-Wisdom KN (2011); Effects of testosterone on spatial learning and memory in adult male rats. *Horm Behav.*; 59:484-496.
- 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 and Rosario ER (2008); Androgens regulate neprilysin expression: role in reducing betaamyloid levels. *J Neurochem.*; 105:2477-2488.