

اثر تزریق استرادیول بنزوات در ناحیه CA1 هیپوکامپ بر یادگیری و حافظه فضایی موشهای صحرایی نر بالغ

ریحانه هویدا^{۱*}، احمد علی معاضدی^۲، عبدالرحمن راسخ^۳

- ۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده علوم، گروه زیست شناس
- ۲- دانشیار نوروفیزیولوژی، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی
- ۳- استادیار آمار، دانشگاه شهید چمران، دانشکده علوم ریاضی و کامپیوتر، گروه آمار.

چکیده

هدف: استروژن نقش پیچیده و گسترده‌ای در یکسری از تواناییهای مغزی از قبیل یادگیری و حافظه دارد. از طرفی هیپوکامپ از ساختارهای مغزی است که نقش مهمی در پردازش اطلاعات فضایی دارد. شواهد موجود نشان می‌دهند که گیرنده‌های استروژنی در ناحیه CA1 هیپوکامپ قرار دارند. لذا در این تحقیق اثر تزریق داخل هیپوکامپی استرادیول بنزوات بر یادگیری و حافظه فضایی موشهای صحرایی نر بالغ نژاد N-MRI بررسی شد.

مواد و روشها: به منظور تزریق داخل ناحیه CA1 هیپوکامپ کانولهایی در این ناحیه به صورت دو طرفه قرار داده شد؛ پس از بهبودی حیوانات در چهار گروه (n=v) تقسیم شدند: گروه کنترل که هیچگونه تزریقی دریافت نکردند و تنها با ماز Y شکل آموزش دیدند. گروههای شاهد سرم فیزیولوژی، حلال روغن کنجد و آزمایش استرادیول که هر روز قبل از آموزش به ترتیب مقادیر ۰/۵ µl سرم فیزیولوژی ۰/۵ mg روغن کنجد و ۱ µg استرادیول بنزوات در حجم ۰/۵ µl در هر طرف ناحیه CA1 هیپوکامپ دریافت می‌کردند. آموزش به مدت ۵ روز متوالی و هر روز ۳۰ بار به وسیله ماز Y شکل انجام می‌گرفت. همه گروهها پس از یک ماه، مجدداً برای تست حافظه یک جلسه در دستگاه قرار می‌گرفتند.

نتایج: تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از طرح اندازه‌گیری مکرر یکطرفه^۱ و متعاقب آن آزمون حداقل تفاوت معنادار^۲ نشان می‌دهد استرادیول باعث افزایش یادگیری شده است و روغن کنجد نیز اثر بهبود دهنده بر یادگیری داشته است. از طرف دیگر استرادیول تغییری در حافظه یک ماه بعد ایجاد نکرده است.

نتیجه گیری: نتایج نشان می‌دهد به طور کلی تزریق استرادیول بنزوات در ناحیه CA1 هیپوکامپ یادگیری را بهبود بخشیده است و احتمالاً استرادیول این اثر را با افزایش انعطاف پذیری در نرونهای هرمی ناحیه CA1 هیپوکامپ اعمال می‌نماید.

کلید واژگان: یادگیری و حافظه فضایی، استرادیول بنزوات، ناحیه CA1 هیپوکامپ، ماز Y شکل، تزریق داخل هیپوکامپی

۱- مقدمه

* نشانی مکاتبه: اصفهان، خیابان چهارباغ خواجو، کوی صدر، کوچه منصوری، شماره ۴ E-mail: rayhaneh-rehi@yahoo.com

1. Repeated Measure Design
2. Least Significant Difference

استرادیول بنزوات در ناحیه CA₁ هیپوکامپ بر یادگیری و حافظه فضایی موشهای صحرایی نر بالغ با استفاده از دستگاه ماز Y شکل بررسی شد.

۲- مواد و روشها

در این تحقیق برای بررسی اثر استروژن بر روند یادگیری و حافظه، موشهای صحرایی نر بالغ نژاد N-MRI از انستیتو رازی حصارک کرج تهیه و مورد استفاده قرار گرفتند. حیوانات قبل از جراحی در گروههای ۷ تایی و پس از جراحی در قفسهای انفرادی نگهداری می شدند محل نگهداری حیوانات دارای دوره روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعته و دمای C ۲۳±۳ بود. آب و غذا به مقدار کافی در اختیار حیوانات قرار داشت. داروی مورد استفاده استرادیول بنزوات تهیه شده از شرکت دارو سازی ابوریحان و حلال آن روغن کنجد بود.

برای انجام عمل جراحی و کانول گذاری در ناحیه CA₁ هیپوکامپ، حیوانات با داروی بیهوشی کتامین^{۱۰} ۱۰٪ و رامپون^{۱۱} (Xyzylazine) ۲٪ که به نسبت ۷۸ mg به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش کتامین و ۳ mg به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش رامپون با یکدیگر مخلوط شده و به صورت داخل عضلانی^{۱۲} تجویز می گردید، بیهوش می شدند. برای کانول گذاری از دستگاه استریوتاکسی^{۱۳} ساخت شرکت استولتینگ آمریکا استفاده شد. کانولهای به کاررفته عبارت بودند از سروسزهای شماره ۲۱^{۱۴} که به صورت دو طرفه در ناحیه CA₁ هیپوکامپ قرار می گرفتند. مختصات مورد استفاده طبق اطلس واتسون^{۱۵} و پاکسینوز^{۱۶} عبارت بودند از:

AP = -۳/۸ mm از برگما، $\pm 2/2 \text{ mm}$ از خط وسط

و DV = - ۲/۴ mm از سطح سخت شاهد (در موارد لزوم

ضریب تصحیح بکار برده می شد) [۱۶]. میله دندانی ۳/۳ m زیر

صفر افقی قرار داشت تا مطابق اطلس وضعیت صاف جمجمه

هیپوکامپ یکی از ساختارهای مغزی است که نقش مهمی در پردازش اطلاعات فضایی و فرایندهای یادگیری و حافظه دارد [۱-۶] شواهد نیز حاکی از آن است که استروژن علاوه بر اثراتش بر قسمتهای مختلف بدن، نقش پیچیده و گسترده تری بر یکسری از تواناییهای مغزی از قبیل یادگیری و حافظه دارد. برخی مطالعات نشان داده اند تجویز استروژن خارجی^۱ فعالیت هیپوکامپ را افزایش می دهد [۷، ۸].

علاوه بر این، گزارش شده که استروژن باعث افزایش حافظه کارکردی^۲ در موشهای صحرایی فاقد تخمدان^۳ می شود [۹]. همچنین گزارش شده که استروژن دوره تثبیت^۴ را بهبود می بخشد ولی اکتساب^۵ را تخریب می کند [۷].

در تحقیقات دیگری آمده، تجویز استرادیول، حافظه کارکردی را بهبود می بخشد و اثر مهار روی اختلالات ناشی از اسکویولامین^۶ دارد ولی عملکرد حافظه مرجع^۷ تحت تاثیر استرادیول نیست [۱۰]. گزارشهای متعددی نیز حاکی از آن است که استروژن در درمان بیماری آلزایمر^۸ و کاهش خطر ابتلا به ضایعات شناختی می تواند مؤثر باشد [۱۱-۱۳]. از طرف دیگر در تحقیقی که به منظور بررسی اثرات استروژن بر شناخت، خلق و خو و جریان خون مغزی در بیماران مبتلا به آلزایمر انجام شده است نتایج نشان داده اند تجویز استروژن تأثیر چشمگیری بر رفتار، خلق و خو و جریان خون مغزی نداشته است ولی در پیشگیری و درمان جنون نقش مهمی بازی می کند [۱۴، ۱۵].

همچنین گزارش شده است استروژن نمی تواند انتخابهای صحیح را در یک مهارت حافظه عملکردی افزایش دهد [۹]. و در موشهای ماده نیز در طی سیکل استروس^۹، تفاوت در عملکرد یادگیری و حافظه مشاهده می شود. با توجه به بعضی گزارشهای متناقض ضرورت تحقیق و بررسی بیشتر و جامع تری در این زمینه لازم به نظر می رسد. بدین منظور در این کار پژوهشی اثر تزریق

- 1 . Exogenous
- 2 . Working memory
- 3 . Ovariectomized
- 4 . Consolidation
- 5 . Acquisition
- 6 . Scopolam
- 7 . Reference memory
- 8 . Alzheimer
- 9 . Estrogen cycle

- 10 . Ketamine
- 11 . Rampone
- 12 . Intramuscular (im)
- 13 . Stereotaxic
- 14 . Needle 21 G
- 15 . Watson
- 16 . Paxinos

تشویق (دریافت پاداش مثل آب و غذا) طراحی شده‌اند. با توجه به تداخل احتمالی برخی داروها در مکانیسم اشتها، همچون هورمون استروژن که گزارش شده است باعث کاهش اشتها می‌شود [۱۷، ۱۸]. به نظر می‌رسد برای بررسی تاثیر داروها بر روند یادگیری، روش تنبیه مناسب‌تر می‌باشد و با توجه به این که هیپوکامپ در حافظه فضایی نقش عمده‌ای دارد در این تحقیق از دستگاه ماز Y شکل، که برای بررسی یادگیری و حافظه فضایی طراحی شده است، استفاده گردید.

۲-۲- مشخصات دستگاه ماز Y شکل

این دستگاه به شکل Y است که دارای سه بازوی کاملاً مشابه به ابعاد ۱۷/۵ × ۶۰ سانتیمتر و ارتفاع ۳۰ سانتیمتر از جنس شیشه شفاف است. کف هر شاخه میله‌های آبکاری کروم، نیکل به فواصل یک سانتیمتر از هم قرار گرفته‌اند که به دو طرف دیواره نصب شده است. احساس ناخوشایند (شوک الکتریکی) به وسیله دستگاه و از طریق این میله‌ها به حیوان منتقل می‌شود. در انتهای هر بازو یک منبع نوری (لامپ ۱۲ ولت) نصب شده است. سطح بالای دستگاه نیز به وسیله سرپوشهای کشویی مسدود گشته تا از خروج حیوان در حین آموزش جلوگیری به عمل آید.

در قسمت کنترلی مشخصات تحریک نظیر طول تحریک، فرکانس تحریک، فاصله زمانی بین روشن شدن لامپ و اعمال تحریک، فاصله زمانی بعد از عمل تحریک و شمارش تعداد دفعات تحریک قابل تنظیم است. دستگاه باید در یک محیط تاریک، آرام و بی‌سر و صدا قرار گیرد. در روز اول آموزش ابتدا حیوان را درماز قرارداده و ۱۵ دقیقه اجازه می‌دهند تا آزادانه درون ماز حرکت کند و با شکل ظاهری ماز آشنا شود؛ سپس آموزش از بازویی شروع می‌شود که حیوان در آن قرار دارد. انتخاب بازوها براساس جدول تصادفی صورت می‌گیرد. با فشار دادن یک دکمه روی دستگاه کنترلی، چراغ یکی از بازوهای ماز روشن می‌شود و در فاصله زمانی کوتاه (۵ ثانیه) موش فرصت دارد تا از محل تاریک خارج شده و به بازوی روشن برود در این صورت اگر موش به بازوی روشن برود انتخاب صحیح محسوب می‌شود. در غیر اینصورت انتخاب غلط محسوب می‌شود. براساس جدول تصادفی در هر روز به هر موش ۳۰ بار آموزش

حاصل شود. کانولها به وسیله سیمان دندانپزشکی و پیچهای کوچک عینک بر روی مجموعه ثابت می‌شدند. یک هفته پس از جراحی و طی دوره بهبودی تزریق دارو و آموزش آغاز می‌شد. آموزش به وسیله دستگاه ماز Y شکل انجام می‌گرفت.

عمل تزریق از طریق یک سر سوزن شماره ۲۷ دندانپزشکی^۱ که بوسیله لوله پلی اتیلن به طول ۱۵۰ به سرنگها ۱۰ ml متصل شده بود، انجام می‌گرفت. سر سوزن تزریق به طول مشخصی بریده می‌شد تا هنگامی که داخل کانول قرار می‌گیرد در حدود نیم میلیمتر از سرکانول بیرون بیاید و به راحتی دارو در محل مورد نظر تزریق و منتشر شود. هر تزریق به آرامی و در مدت ۱ دقیقه صورت می‌گرفت.

برای انجام آزمایشها ابتدا حیوانات به طور تصادفی در گروههای ۷ تایی تقسیم شدند:

۱- گروه کنترل که تنها تحت عملیات جراحی قرار گرفتند و پس از دوره بهبودی به مدت ۵ روز با دستگاه ماز Y شکل آموزش می‌دیدند.

۲- گروه حلال روغن کنجد که هر روز بلافاصله قبل از آموزش ۰/۵ ml روغن کنجد به عنوان حلال استرادیول بنزوات در هر طرف ناحیه CA₁ هیپوکامپ دریافت می‌کردند.

۳- گروه آزمایش استرادیول بنزوات که هر روز بلافاصله قبل از آموزش ۱ μg استرادیول بنزوات در حجم ۰/۵ ml در هر طرف ناحیه CA₁ هیپوکامپ دریافت می‌کردند.

۴- گروه شاهد سرم فیزیولوژی که هر روز بلافاصله قبل از آموزش ۰/۵ ml سرم فیزیولوژی در هر طرف ناحیه CA₁ هیپوکامپ دریافت می‌کردند. برای بررسی حافظه، هر کدام از حیوانات یکماه بعد یک جلسه در دستگاه ماز Y شکل تست شده و نتایج آن با نتایج روز پنجم آموزش مقایسه می‌گردید.

۲-۱- دستگاه

برای دست یابی به روند یادگیری و حافظه در مدل‌های آزمایشگاهی مازهای متنوعی به کار گرفته می‌شوند که عمدتاً براساس دو روش تنبیه (دریافت شوک یا احساس ناخوشایند) و

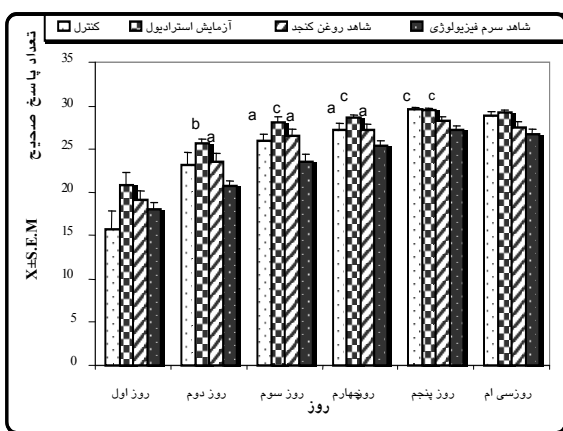
۱۱۷
1. Dental Needle 27G

داده می‌شود و در پایان هر جلسه تعداد پاسخ صحیح^۱ محاسبه می‌شود. جلسات آموزش به مدت ۵ روز متوالی ادامه می‌یافت تا موشها به معیار پاسخ صحیح^۲ برسند یعنی از ۳۰ بار آموزش در روز حداقل ۲۶ بار انتخاب صحیح بنمایند.

۳- نتایج

به منظور مقایسه میانگین تعداد پاسخ صحیح (به عنوان معیار یادگیری) در گروههای مختلف و تعیین اینکه آیا گروهها با یکدیگر اختلاف دارند یا نه از یک طرح با اندازه‌گیری مکرر یکطرفه^۳ استفاده شده است که نشان می‌دهد به طور کلی بین گروهها اختلاف معنادار وجود دارد ($P < 0.05$). برای مقایسه گروههای مختلف در ۵ روز متوالی آموزش نیز از یک طرح تصادفی کاملاً یکطرفه آنالیز واریانس^۴ استفاده شده و برای تعیین معنادار بودن تفاوت بین گروهها از آزمون حداقل تفاوت معنادار^۵ استفاده شده است. به منظور مقایسه میانگین تعداد پاسخ صحیح روز پنجم آموزش و تست حافظه یکماه بعد نیز از آزمون t زوج شده^۶ استفاده شده است. در مورد یادگیری نتایج نشان می‌دهد که: بین گروههای کنترل و شاهد سرم فیزیولوژی در روز اول و دوم آموزش تفاوت معنادار وجود ندارد ولی در روزهای سوم، چهارم ($P < 0.05$) و پنجم ($P < 0.001$) تفاوت معنادار مشاهده می‌شود.

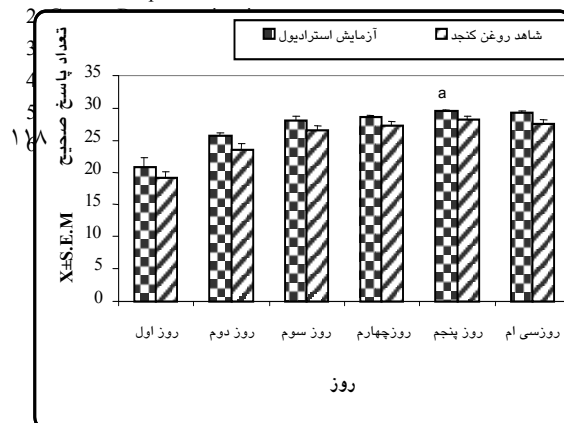
نمودار ۱ بین گروههای شاهد سرم فیزیولوژی و آزمایش استرادیول در روز اول تفاوت معنادار مشاهده نمی‌شود ولی در روزهای بعدی بین این دو گروه تفاوت معنادار مشاهده می‌شود. ($P < 0.001$)



نمودار ۲ بین گروههای شاهد سرم فیزیولوژی و شاهد روغن کنجد در روز اول و پنجم تفاوت معنادار دیده نمی‌شود ولی در روز دوم با ($P < 0.1$) و در روزهای دوم تا چهارم بین دو گروه مذکور تفاوت معنادار مشاهده گردید ($P < 0.05$).



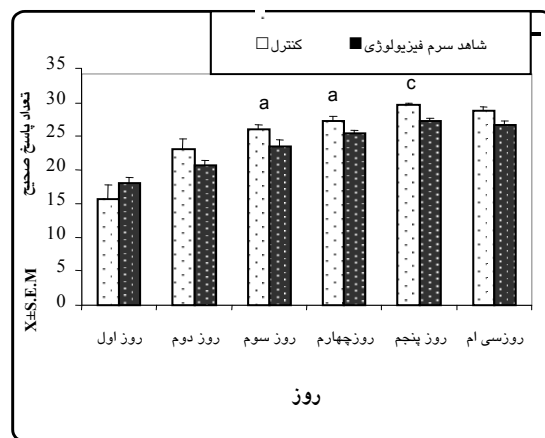
1. Correct Responses number



در این کار پژوهشی که به بررسی اثر تزریق داخل هیپوکامپی (دو طرفه) استرادیول بنزوات بر یادگیری و حافظه فضایی موشهای صحرایی نربالغ پرداخته شد، نتایج نشان دادند در مورد یادگیری بین گروههای شاهد سرم فیزیولوژی و کنترل در روزهای سوم و چهارم ($P < 0/05$) و پنجم ($P < 0/001$) تفاوت معنادار مشاهده می‌شود. به نظر می‌رسد استرس ناشی از تزریق این حجم سرم فیزیولوژی به داخل نواحی CA₁ هیپوکامپ باعث کاهش یادگیری شده است (نمودار ۱)؛ بنابراین گروههای آزمایش با گروه شاهد سرم فیزیولوژی مورد مقایسه قرار گرفتند.

مقایسه گروههای شاهد سرم فیزیولوژی و آزمایش استرادیول در روزهای دوم تا پنجم تفاوت معنادار نشان داده است (نمودار ۲) از این نتایج استنباط می‌شود تزریق استرادیول باعث افزایش یادگیری در موشهای صحرایی نربالغ شده است. این نتایج گزارشهای متعددی را که در مورد اثرات بهبود دهنده استرادیول بر یادگیری اعلام شده است، تأیید می‌نماید [۷-۲۶]. در همین رابطه اخیراً گزارش شده است، که گیرنده‌های استروژنی غیرهسته‌ای، در دندریتها، پایانه‌های پیش سیناپسی و سلولهای گلیال وجود دارند. یعنی مکانهایی که گیرنده‌های استروژنی ممکن است به سیستمهای پیامبر ثانویه، متصل شوند و عملکردهای سلولی مختلفی را تنظیم نمایند [۲۷]. همچنین در گزارش دیگری اعلام شده است که استروئیدهای جنسی، مانند استرادیول، می‌توانند فعالیت‌های عصبی را از طریق اثرات سریع بر غشاهای عصبی تحت تاثیر قرار دهند [۲۸]. عملکردهای غیر ژنومی ۱۷-بتا استرادیول به خوبی به اثبات رسیده است و اثرات مستقیم استروژنها بر غشاهای عصبی با دخالت گیرنده‌های غشایی ویژه را نشان می‌دهد. اضافه کردن استرادیول به برشهای ناحیه CA₁ هیپوکامپ پتانسیل پس سیناپسی تحریکی را افزایش می‌دهد که این عمل نمی‌تواند در مدت ۲ دقیقه از طریق مکانیزمهای نسخه برداری صورت گیرد [۲۹]. همه موارد مذکور

نمودار ۳ بین گروههای شاهد روغن کنجد و آزمایش استرادیول در روزهای اول تا چهارم تفاوت معنادار مشاهده نمی‌شود ولی در روز پنجم بین این دو گروه تفاوت معنادار وجود دارد ($P < 0/05$)



نمودار ۴

نتایج مقایسه آماری در مورد تست حافظه نیز نشان می‌دهد در هیچکدام از گروههای کنترل، شاهد سرم فیزیولوژی، شاهد روغن کنجد و آزمایش استرادیول تفاوت معناداری بین میانگین تعداد پاسخ صحیح روز پنجم آموزش و تست حافظه یکماه بعد وجود ندارد. (نمودارهای ۱ تا ۴) از نتایج فوق استنباط می‌شود به طور کلی تزریق استرادیول در ناحیه CA₁ هیپوکامپ به صورت دو طرفه در موشهای صحرایی نربالغ باعث افزایش یادگیری شده است. همچنین تزریق روغن کنجد نیز بهبود یادگیری را سبب شده است؛ در حالی که تجویز استرادیول به روش مذکور در حافظه یکماه بعد نسبت به روز پنجم آموزش تغییری ایجاد نکرده است.

استروئیدهای موردنظر در مقایسه با گروهی که به عنوان حلال روغن کنجد دریافت کرده‌اند اعلام شده است [۲۴-۴۳] و با توجه به اینکه در این کار پژوهشی تاثیر مثبت روغن کنجد بر یادگیری به اثبات رسید می‌توان نتایج تحقیقات مذکور را مورد انتقاد قرار داد و پیشنهاد می‌شود تاثیر استروئیدها بر فرایندهای حافظه و یادگیری در مقایسه با گروههایی اعلام شود که ماده بی اثر بر فرایندهای یادگیری و حافظه در آنها تجویز شده باشد تا بتوان با اطمینان بیشتری اثرات استروئیدها بر فرایندهای یادگیری و حافظه را اعلام کرد. به همین منظور در این کار پژوهشی علاوه بر گروه شاهد روغن کنجد، گروه شاهد سرم فیزیولوژی نیز در نظر گرفته شده است.

مقایسه گروههای شاهد روغن کنجد و آزمایش استرادیول در این قسمت از آزمایش نیز نشان می‌دهد بین این دو گروه در روزهای اول تا چهارم آموزش تفاوت معناداری مشاهده نمی‌شود (نمودار ۴). هر چند در تمام این روزها میانگین تعداد پاسخ صحیح در گروه آزمایش استرادیول بیشتر است؛ بنابراین در این قسمت از آزمایش نیز می‌توان چنین استنباط کرد که اثرات بهبود دهنده استرادیول بنزوات که حلال آن روغن کنجد می‌باشد احتمالاً می‌تواند ناشی از اثر سینرژیست استرادیول و روغن کنجد باشد. مقایسه میانگین تعداد پاسخ صحیح روزی ام تست حافظه و در روز پنجم آموزش در بررسی اثر تزریق داخل هیپوکامپی دو طرفه استرادیول بنزوات بر حافظه فضایی موشهای صحرایی نر بالغ نیز نشان داد که در هیچکدام از گروهها تفاوت معنادار وجود ندارد این بدین مفهوم است که تزریق استرادیول به صورت دو طرفه در ناحیه CA₁ هیپوکامپ تغییری در حافظه یکماه بعد نسبت به روز پنجم آموزش ایجاد نکرده است.

این نتایج نیز گزارشهای متعددی که مبنی بر اثر بهبود دهنده استرادیول بر فرایند حافظه اعلام شده است را تأیید می‌کند؛ از جمله گزارشهایی که اعلام کرده‌اند اثرات بهبود دهنده استرادیول بر حافظه با مدت کوتاهتر درمان، تراکم سیناپسی خا‌های CA₁ را تحت تاثیر قرار می‌دهد [۴۴، ۴۳]. علاوه بر این اثبات شده است که درمان با استروژن عملکرد تستهای فوری و تاخیری به

مؤید این است که اثر استرادیول بر یادگیری متعاقب تجویز فوری استرادیول بنزوات در ناحیه CA₁ هیپوکامپ احتمالاً می‌تواند از طریق اثرات غیر ژنومیک استرادیول صورت گرفته باشد.

مقایسه گروههای شاهد سرم فیزیولوژی و شاهد روغن کنجد در بررسی اثر تزریق داخل هیپوکامپی استرادیول بنزوات بر یادگیری فضایی موشهای صحرایی نر بالغ نیز نشان می‌دهد در روزهای دوم، سوم و چهارم آموزش بین این دو گروه تفاوت معنادار وجود دارد ($P < 0.05$) (نمودار ۳). این نتایج پیشنهاد می‌کنند که روغن کنجد نیز اثرات بهبود دهنده بر یادگیری اعمال می‌کند که این نتایج با گزارشهای مبتنی بر اثر بهبود دهنده روغنهای گیاهی بر فرایند یادگیری، مغایرتی ندارد [۳۰، ۳۱].

علاوه بر این روغن کنجد دارای اسیدهای چرب غیر اشباعی است که تحقیقات نشان داده‌اند این اسیدهای چرب باعث تعدیل فرایند یادگیری فضایی می‌شوند مخصوصاً اسیدلینولئیک^۱ موجود در روغن کنجد زیاد بوده و با توجه به اینکه این اسید چرب باعث کاهش کلسترول می‌شود و کاهش کلسترول نیز باعث افزایش سیالیت غشا می‌شود [۳۲-۳۴]. بنابراین این اسید چرب می‌تواند از طریق کاهش کلسترول یادگیری را بهبود بخشد [۳۵، ۳۶].

علاوه بر این تحقیقات نشان داده‌اند اسیدهای چرب با پیوند دو گانه باعث افزایش سیالیت غشا می‌شوند و می‌توانند بیماری آلزایمر را بهبود دهند [۳۷]. بنابراین با توجه به شواهد مذکور روغن کنجد نیز که سرشار از اسیدهای چرب غیر اشباع است با تغییر سیالیت غشا می‌تواند یادگیری را بهبود بخشد. علاوه بر این یکی دیگر از ترکیبات روغن کنجد فسفا تیدیل کولین^۲ (لستین)^۳ است که خود باعث کاهش کلسترول می‌شود [۳۸]. فسفا تیدیل کولین به عنوان پیش ساز استیل کولین نیز می‌تواند یادگیری را تعدیل کند [۳۹]. با توجه به نکات مذکور اشاره به این مطلب ضروری به نظر می‌رسد که در یک سری از تحقیقات روغن کنجد به عنوان حلال استروئیدها به کار رفته است و اثرات

1. Linoleic acid
2. Phosphatidyl choline
3. Lecitine

و حافظه فضایی موشهای صحرایی نر بالغ. در مورد یادگیری سطح معنادار عبارتست از:

$$p < 0/05 = a \quad p < 0/001 = c$$

نمودار ۲ مقایسه میانگین تعداد پاسخ صحیح (میانگین \pm خطای استاندارد میانگین) در ۵ روز متوالی آموزش، همچنین مقایسه میانگین تعداد پاسخ صحیح روز پنجم آموزش و تست حافظه یکماه بعد گروههای شاهد سرم فیزیولوژی و شاهد روغن کنجد در بررسی اثر تزریق داخل هیپوکامپی استرادیول بنزوات بر یادگیری و حافظه فضایی موشهای صحرایی نر بالغ. در مورد یادگیری سطح معنادار عبارتست از:

$$p < 0/05 = a$$

نمودار ۳ مقایسه میانگین تعداد پاسخ صحیح (میانگین \pm خطای استاندارد میانگین) در ۵ روز متوالی آموزش، همچنین مقایسه میانگین تعداد پاسخ صحیح روز پنجم آموزش و تست حافظه یکماه بعد گروههای شاهد سرم فیزیولوژی و آزمایش استرادیول در بررسی اثر تزریق داخل هیپوکامپی استرادیول بنزوات بر یادگیری و حافظه فضایی موشهای صحرایی نر بالغ.

$$p < 0/01 = b \quad p < 0/001 = c$$

نمودار ۴ مقایسه میانگین تعداد پاسخ صحیح (میانگین \pm خطای استاندارد میانگین) در ۵ روز متوالی آموزش، همچنین مقایسه میانگین تعداد پاسخ صحیح روز پنجم آموزش و تست حافظه یکماه بعد گروههای آزمایش استرادیول و شاهد روغن کنجد در بررسی اثر تزریق داخل هیپوکامپی استرادیول بنزوات بر یادگیری و حافظه فضایی موشهای صحرایی نر بالغ. در مورد یادگیری سطح معنادار عبارتست از:

$$p < 0/05 = a$$

یادآوری شفاهی را در خانمهای یائسه سالم و جراحی شده بهبود میبخشد [۴۵]. همچنین کوردوبا - مونتو یا وکارر^۴ نشان دادند استرادیول آستانه تحریک برای القاء LTP را کاهش می دهد [۲۴]. علاوه بر این گزارش شده است که تیمار با استروژن بیان کولین استیل ترانسفراز را به وسیله نرونهای مغزی افزایش داده و باعث افزایش آزادسازی استیل کولین در هیپوکامپ می شود [۴۵]. در مطالعات دیگری گزارش شده استروژن عملکرد موشهای صحرایی را در فرایندهای یادگیری و حافظه به ویژه مهارتهایی که وابسته به حافظه کارکردی فضایی است بهبود می بخشد [۱۱]. پکارد و همکارانش نیز اعلام کرده اند تزریق داخل هیپوکامپی پس از آموزش استرادیول حافظه فضایی را در موشهای صحرایی نر بهبود می بخشد [۴۶].

لذا با توجه به نتایج به دست آمده از کار پژوهشی حاضر و گزارشهای مذکور پیشنهاد می شود احتمالاً تجویز استرادیول از طریق تداخل عمل با سیستمهای کولینرژیک، کاتکولامینرژیک، سروتونرژیک و نورترانسسمیترهای دیگر همچنین با افزایش انعطاف پذیری سیناپسی باعث افزایش یادگیری و حافظه می شود. علاوه بر این اثرات غیر ژنومیک استرادیول نیز به عنوان مکانیزمهای دخیل در اثرات آن بر فرایندهای مذکور مطرح می باشد [۴۵].

بنابراین با توجه به نتایج به دست آمده از کار پژوهشی حاضر در مورد اثر بهبود دهنده استرادیول بر یادگیری و حافظه فضایی موشهای صحرایی نر بالغ می توان پیشنهاد کرد که این هورمون در مردان نیز می تواند در درمان بیماریهای مرتبط با نقص شناختی همچون بیماری آلزایمر مؤثر باشد. ولیکن کشف مکانیزمهای دقیق تاثیر این هورمون بر عملکردهای شناختی نیاز به تحقیقات جامع تری دارد.

نمودار ۱ مقایسه میانگین تعداد پاسخ صحیح (میانگین \pm خطای استاندارد میانگین) در ۵ روز متوالی آموزش، همچنین مقایسه میانگین تعداد پاسخ صحیح روز پنجم آموزش و تست حافظه یکماه بعد گروههای کنترل و شاهد سرم فیزیولوژی در بررسی اثر تزریق داخل هیپوکامپی استرادیول بنزوات بر یادگیری

۵- منابع

- [1] Barelay SR, Hading CF. Differential modulation of monomania levels and turn over rates by estrogen and/or androgen in hypothalamic and vocal control nuclear of male zebra finches. *Brain Res* 1990; 523: 251-62.
- [2] Beachward FA, MC carthy MM. Functional significance of steroid modulation of GABAergic neurotransmission, analysis at the behavioral, cellular and molecular Levels. *Brain Res* 1995.692:131- 40.
- [3] Silverthorn DV, Ober WC, Carrison CW. *Human physiology*. Newjersey: Prentice; Hall Inc.1998. p. 254.
- [4] Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrik D,etal. *Neuroscience*. Sunderland, MA: Sinauer Associate Inc. 1997, p. 44.
- [5] Endo y, Nishimura JI, Kimura F. Impairment of maze learning in rats following long-term glucocorticoid treatments. *Neurosci Lett* 1996; 203: 199-202.
- [6] Stacey GW, Janice MJ. Spatial and nonspatial learning across the rat estrous cycle. *Behav Neurosci* 1997. 111(2): 259-66.
- [7] Daniel JM, Fader AJ, Spencer A, Dohanich GP. Estrogen enhances performance of female rats during acquisition of a radial arm maze. *Horm Behav* 1997; 32: 217-25.
- [8] Daniel JM, Roberts SL, Dohanich GP. Effect of ovarian hormones and environment on radial maze and water maze performance of female rats. *Physiol Behav* 1999; 66 (1): 211-20.
- [9] O'Neal MF, Means LW, Pool MC, Hamm RJ, Hamm RJ. Estrogen affects performance of ovariectomized rats in a two choice water-escape working memory task. *Psychoneuroendocrinology*.1996; 21(1): 51-65.
- [10] Fader AJ, Hendricson A. Esterogen improves performance of reinforced T maze alternation and prevent the amnestic effect of scopolamine. *Neurobiol Learn Mem* 1998; 69: 225- 40.
- [11] Luine V, Rodriguez M. Effects of estradiol on radial arm maze performance in young and aged rats. *Behav Neural Biol*. 1994. 62(3): 230- 36.
- [12] Resnick SM, Maki PM, Golskis, Kraut M A, Zonderman AB. Effects of estrogen replacement therapy on PET cerebral blood flow and neuropsychological performance. *Horm Behav* 1998; 34(2): 171- 82.
- [13] Walling AD. Estradiol concentration levels and cognitive impairment. *American Family Physician*, February 2001, Available from: <http://www.aafp.org/afp/200/0201/tips/8.html>.
- [14] Wang PN, Liao MI, Liu RS. Effect of estrogen on cognition, mood and cerebral blood flow in AD. *Neurol* 2000; 54: 2061-66.
- [15] Brige SJ. Is there a role for estrogen replacement therapy in the prevention and treatment of dementia. *J Am Griatr Soc* 1996. 44(7): 865-870.
- [16] Paxinos G, Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 4th edition. New York: Academic Press; 1998.
- [17] Ganesan R, Simpkins JW. Conditioned taste aversion induced by estradiol pellets. *Physiol Behav* 1991; 50: 849- 52.
- [18] Ganesan R. The aversive and hypophagic effects of estradiol; *Physiol Behav* 1994; 55 (2): 279- 85.

- [19] Sherwin BB, Estrogen effects on memory in women In: Hormone restructuring of the adult brain by Luine VN, Harding CF (Eds); New York Academy of Sciences. 1994; pp. 201-11.
- [20] Tang MX, Jacobs DM, et al. Effect of estrogen during menopause on risk and age at onset of alzheimer's disease. *Lancet* 1996; 348: 429- 32.
- [21] Henderson VW, Paganini – Hill A, Emanuel CK, Dunn ME, Buckwalter JG. Estrogen replacement therapy in older women. Comparisons between alzheimer's disease cases and nondemented control subjects. *Arch Neurol* 1994; 51: 896-900.
- [22] Gould E, Woolley CS, Frankfurt M, McEwen BS. Gonadal steroids regulate dendritic spine density in hippocampal pyramidal cells in adulthood. *J Neurosci* 1990; 10: 1286-91.
- [23] Weiland SG. Estradiol selectively regulates agonist binding sites on the N- methyl D aspartate receptor complex in the CA1 region of the hippocampus. *Endocrinol* 1990; 131: 662- 68.
- [24] Cordoba Montoya DA, Carrer H F. Estrogen facilitates induction of long term potentiation in the hippocampus of awake rats. *Brain Res* 1997; 778 (2): 430- 38.
- [25] Woolley CS, McEwen BS. Estradiol regulates hippocampal dendritic spine density via N-methyl D aspartate receptor dependent mechanism. *J Neurosci* 1994; 14: 7680-87.
- [26] Woolley CS. Estrogen- mediated structural and functional synaptic plasticity in the female rat hippocampus. *Horm Behav* 1998; (34): 140- 48.
- [27] Pozzo- Miller LP, Inoue T, Murphy DD; Estrodial increases spine density and NMDA-dependent ca²⁺ transients in spines of CA1 pyramidal neurons formhippocampal slices. *J Neurophysiol* 1999; 81 (3): 1404 - 1411.
- [28] Lathe R. Hormones and the hippocampus. *J Endocrinol* 2001; 169: 205- 31.
- [29] MC Ewen BS. Genome and hormones: gender differences in physiology, Invited review: estrogens effects on the brain: multiple sites and molecular mechanisms. *J Appl Physiol* 2001; 91(6): 2785-2801.
- [30] Horvat A, Nikezic G, Martinovic JV. Estradiol binding to synaptosomal Plasma membranes of rat brain regions. *Exprimentia* 1995; 51: 11-15.
- [31] Green P S, Bishop J, Simpkins J W. 17a - estradiol exerts neuro protective effects on SK-N-SH cell. *J Neurosci* 1997; 17 (2): 511-17.
- [۳۲] شفاهی م. اثر رژیم غذایی حاوی روغن کنجد بر یادگیری فضایی موشهای صحرایی نر پیر و جوان، پایان نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری دانشگاه شهید چمران. دانشکده علوم ۱۳۸۱.
- [۳۳] معاضدی ا، صلح جو ک، رشیدی ه، چینی پرداز ر. اثر رژیم غذایی حاوی روغن ذرت بر یادگیری فضایی موش. مجله علمی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اهواز. صحرایی (RAT) اسفند ماه ۱۳۷۹، شماره ۲۹؛ صفحات ۲۶-۳۴.
- [34] Jonnalagada S, Mustad VA, et al. Effect of individual fatty acids on chronic diseases. *Nutr Today*. 1995; 90-107.
- [35] Tamura M, Suzuki H. Effect of docosahe-xaenic acid and linolenic acids on the ultrastructureof liver cells in adult mice. *Int J Vitam Nutr Res* 1997; 67 (2): 134-35.
- [36] Yehuda S, Brandys Y, Biumen feld A. Essential fatty acid preparation reduces cholesterol and fatty acid in rat cortex. *J Neurosci* 1996; 86: 249-256.
- [37] Senturk UK, oner G. The effects of mang-

- anese induced hypercholesterolemia on learning in rats. *Biol Trace Elem Res* 1996; 51 (3): 249-57.
- [38] Sentrk UK, Oner G. The effect of manganese induced learning effect in rats. *Food Chem toxicol*. 1995;33(7): 559-63.
- [39] Yehuda S, Rabinovtz S. Essential fatty acids preparation (SR-3) improves alzheimers' patients quality of life. *J Neurosci* 1996; 87: 141- 49.
- [40] Desmond NL, Zhang DX, Levy WB. Estradiol enhances the induction of homosynaptic long term depression in the CA1 region of the adult ovariectomized rat. *Neurobiol Learn Mem* 2000; 73(2): 80-187.
- [41] Fugger HN, Cunningham SG, Rissman EF, Foster TC. Sex differences in activational effect of erralpha on spatial learning. *Horm Behav* 1998; 34(2): 163- 67
- [42] Dohanich GP, Fader AJ, Javorsky DJ. Estrogen and estrogen-progesterone treatments counteract the effect of scopolmine on reinforced T-maze alternation in female rats. *Behav Neurosci* 1994;108(5): 988- 92.
- [43] Galea LAM, Wide JK, Paine TA, et al. High levels of estradiol disrupt conditioned place performance learning. Stimulus response learning and reference memory but have limited effects on working memory. *Behav Brain Res*. 2001;126: 115-26.
- [44] Williams CL. Short-term but not Long term estradiol replacement improves radial arm maze performance of young and aging rats. *Soc Neurosci* 1996; 22: 1164.
- [45] Kampen DL, Sherwin BB. Estrogen use and verbal memory in healthy post menopausal women. *Obstet Gynecol* 1994; 83: 979- 83.
- [46] Packard MG, Kohlmaier JR, Alexander G M. Posttraining intra hippocampal estradiol injections enhance spatial memory in male rats: Interaction with cholinergic systems. *Behav Neurosci* 1996;110(3): 626- 32.