



## The effect of intrahippocampal injection of diarylpropionitrile, a selective estrogen receptor- $\beta$ agonist, on passive avoidance learning

Zeinab Sharifkhodaei<sup>1,2</sup>, Nasser Naghdi<sup>2\*</sup>, Shahrbanoo Oryan<sup>3</sup>,

Parichehr Yaghmaei<sup>1</sup>

1. Dept. Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2. Dept. Physiology and Pharmacology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran

3. Dept. Biology, Tarbiat Moalem University, Tehran, Iran

Received: 5 Mar 2008

Revised: 23 Aug 2008

Accepted: 25 Aug 2008

### Abstract

**Introduction:** Neurohormones like testosterone and estradiol have an important role in learning and memory. The hippocampus is essentially involved in learning and memory, and is known to be a target for estradiol actions. Estrogen receptors (ERs) are highly expressed in CA1 of rat hippocampus, and mediate the effects of estrogen on learning and memory. Estradiol receptor belong to a family of transcription factors, the nuclear receptor superfamily, and has two subtypes ER $\alpha$  and ER $\beta$ . The current research has been conducted to assess the effect of ER $\beta$  selective agonist, diarylpropionitrile (DPN), on passive avoidance of adult male rats, by using passive avoidance task.

**Methods:** Male adult rats were bilaterally cannulated into the CA1 area of hippocampus, and then received vehicle (dimethyl sulfoxide, DMSO) or DPN (0.2, 0.5, 1  $\mu$ g/0.5 $\mu$ l/side), 30 min before training on passive avoidance task.

**Results:** The results showed that pre-training intra-CA1 injections of DPN (0.5, 1  $\mu$ g/0.5 $\mu$ l/side), significantly decreased step-through latencies and increased time spent in dark on passive avoidance learning ( $P < 0.01$ ).

**Conclusion:** Our data suggest that intra-CA1 administration of DPN could impair learning and memory acquisition on passive avoidance task.

**Keywords:** Estradiol; Estradiol receptor  $\beta$ ; passive avoidance learning; Rat.

\* Corresponding author e- mail: naghdi@pasteur.ac.ir  
nnaghdiir@yahoo.com  
Available online @: www.phypha.ir/ppj

## تأثیر تزریق درون هیپوکامپی DPN (آگونست اختصاصی گیرندهی بتا استرادیول) بر حافظه و یادگیری اجتنابی غیرفعال در موش صحرائی

زینب شریف خدایی<sup>۱</sup>، ناصر نقدی<sup>۲\*</sup>، شهربانو عریان<sup>۳</sup>، پریچهر یغمایی<sup>۱</sup>  
۱. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

۲. گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی، انیستیتو پاستور، تهران

۳. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت معلم، تهران

دریافت: ۱۴ شهریور ۸۷ بازبینی: ۵ آبان ۸۷ پذیرش: ۲۲ آبان ۸۷

### چکیده

**مقدمه:** نورهورمون‌ها همانند تستوسترون و استرادیول نقش مهمی در یادگیری و حافظه بر عهده دارند. هیپوکامپ نیز بطور اساسی در یادگیری و حافظه دخالت دارد و بعنوان انجام هدف برای عملکردهای استرادیول شناخته شده است. گیرنده‌های استروژنی (ERs) بطور متراکم در ناحیه CA1 هیپوکامپ رت بیان می‌شوند و تأثیرات استرادیول بر یادگیری و حافظه را میانجی‌گری می‌کنند. گیرنده‌های استروژن متعلق به خانواده فاکتورهای رونویسی، فوق خانواده گیرنده‌های هسته‌ای، هستند و به نوع  $\alpha$  و  $\beta$  تقسیم می‌شوند. در این مطالعه، تأثیر آگونست اختصاصی  $ER\beta$ ، diarylpropionitrile (DPN) بر یادگیری اجتنابی غیرفعال در رت‌های نر بالغ در دستگاه اجتنابی غیرفعال مورد بررسی قرار گرفته است.

**روش‌ها:** رت‌های نر بالغ بطور دو طرفه در ناحیه CA1 هیپوکامپ کانول‌گذاری شدند در گروه کنترل (dimethyl sulfoxide) DMSO خالص و در گروه تجربی دوزهای ۰/۲ و ۰/۵ و ۱ میکروگرم DPN حل شده در ۰/۵ میکرولیتر DMSO تهیه شد و ۳۰ دقیقه قبل از آموزش در دستگاه اجتنابی غیرفعال به آنها تزریق شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان دادند که تزریق دوزهای ۰/۵ و ۱ میکروگرم DPN قبل از آموزش در ناحیه CA1، بطور معنی‌داری زمان تاخیر در ورود به اتاق تاریک را کاهش می‌دهند و موجب افزایش مدت زمان حضور در اتاق تاریک می‌شوند ( $P < 0.01$ ).

**نتیجه‌گیری:** این اطلاعات پیشنهاد می‌کنند که تزریق DPN در ناحیه CA1 باعث تخریب یادگیری و حافظه می‌شود. پس گیرنده‌ی بتای استرادیول نقش مهمی در یادگیری و حافظه اجتنابی غیرفعال بر عهده دارد.

**واژه‌های کلیدی:** استرادیول، گیرنده بتای استرادیول، یادگیری اجتنابی غیرفعال

### مقدمه

آندروستندیون (AD)، تستوسترون و استرادیول از کلاسترول درون زا گزارش شده است [۲۵، ۱۸]. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که نورون‌های هیپوکامپ با مجموعه‌ای از آنزیم‌ها ساخت استرادیول و تستوسترون از کلاسترول را کاتالیز می‌کنند [۲۷، ۱۸]. غلظت پایه استرادیول در هیپوکامپ حدوداً ۱ nM است که از میزان آن در پلاسما خون بیشتر است [۲۸].

در مغز ساخت دهیدرواپی آندروسترون (DHEA)،

naghdi@pasteur.ac.ir

nnaghdiir@yahoo.com

www.phypha.ir/ppj

\* نویسنده مسئول مکاتبات:

وبگاه مجله:

شواهدی وجود دارد که استروئیدهای گنادی مثل تستوسترون، استرادیول، دی هیدروتستوسترون و پرگنولون بردستگاه عصبی مرکزی اثراتی را اعمال می کنند [۳۵]. تراکم بالای گیرنده های استروژن و آندروژن در مراکز بنیادی یادگیری و حافظه در مغز، مثل هیپوکامپ، نشان می دهد که احتمالاً روابطی بین گیرنده های آندروژن و استروژن و جنبه های ادراکی دستگاه عصبی مرکزی برقرار است [۲۰، ۱۶].

اثرات هورمون های استروئیدی توسط گیرنده های درون سلولی ویژه ای در بافت هدف میانجی گری می شود، که کمپلکس های استروئید- گیرنده نقش مرکزی در بکارگیری مکانیسم های سلولی لازم برای فعال کردن رونویسی ژن بر عهده دارند [۸]. گیرنده های استرادیول (ERs) بطور غالب در سیستم لیمبیک مثل آمیگدال، سپتوم، هیپوکامپ و همچنین هیپوتالاموس متمرکز شده اند و در مراحل احساسی و ادراکی دخالت دارند [۳۷، ۲۹، ۱]. گیرنده های استرادیول به خانواده فاکتورهای رونویسی و فوق خانواده گیرنده های هسته ای متعلق هستند [۲۳، ۲۲] و به دو تیپ گیرنده استرادیولی آلفا و بتا تقسیم می شوند [۵]. در سال ۱۹۹۶ دومین تیپ گیرنده استرادیول، ER $\beta$ ، از پروستات و تخمدان موش صحرایی جدا شد [۲۲]. متعاقباً این گیرنده تازه ی استرادیول در موش [۳۸] و انسان کشف شد [۲۶]. این دو نوع گیرنده استروژنی توسط ژن های جداگانه ای کد می شوند (گیرنده آلفا استرادیول توسط کروموزوم ۶ و بتا توسط کروموزوم ۱۴) و ایزوفرم یکدیگر نیستند [۳۸]. در انسان مقدار نسبتاً زیادی از ER $\beta$  در هیپوکامپ، قشر، کلاستروم یافته شده است، در حالیکه، بر خلاف ER $\alpha$ ، مقدار کمتری از آن در هیپوتالاموس و آمیگدال وجود دارد [۲۹]. در پریمادها و جوندگان هر دو نوع گیرنده استرادیول، آلفا و بتا در نواحی مختلفی از مغز یافت می شوند، در هیپوکامپ نسبت بالایی از ER $\beta$ /ER $\alpha$  وجود دارد [۳۱، ۱۴، ۱].

دیده شده است که استرادیول اثرات حادی بر هیپوکامپ دارد و باعث بالا رفتن حافظه فضایی می شود که ممکن است از طریق فعالیت های ژنومیک گیرنده های استرادیول باشد [۳۰]. هر دو نوع گیرنده خارج هسته ای ER $\beta$  و ER $\alpha$  در هیپوکامپ و آمیگدال متمرکز شده اند، دو منطقه ای که تنظیم کننده های مهمی برای یادگیری و حافظه هستند [۱۹]. استرادیول برای بسیاری از رفتارها از جمله رفتارهای ادراکی

ضروری است. یادگیری و حافظه از جمله حافظه مرجع توسط استرادیول تخریب می شود. در مقابل، سطح پائینی از استرادیول ممکن است باعث بهبود حافظه جاری شود [۳۳]. برخی مطالعات نشان می دهند که ER $\beta$  یک تعدیل کننده مهم تکثیر سلولی و حافظه و یادگیری است [۹]. در موش هایی که در آنها ER $\beta$  حذف شده است یادگیری و حافظه اکتسابی در ماز آبی موریس در مقایسه با گروه کنترل تخریب شده است [۳۳]. اخیراً در گزارشی پیشنهاد شده است که موش های ماده ای که در آنها ER $\beta$  حذف شده است سطوح بالا رفته ای از اضطراب و سطوح تقلیل یافته ای از فعالیت را در آزمون های باز از خود نشان می دهند [۲۱]، در حالیکه یافته های گذشته نشان می دهند موش های ماده ای که در آنها گیرنده آلفا استرادیول حذف شده است در آزمون اجتنابی غیر فعال یادگیری خوبی ندارند [۱۲]. این یافته ها ما را به این فکر می اندازند که دو نوع گیرنده استرادیول انواع مختلفی از حافظه و یادگیری را درگیر می کنند، ممکن است ER $\alpha$  برای یادگیری احساسی که بیشتر مربوط به آمیگدال می شود ضروری باشد در حالیکه یادگیری فضایی وابسته به هیپوکامپ به ER $\beta$  نیاز دارد [۳۳].

این اطلاعات ما را بر آن داشت تا با استفاده از آگونیست اختصاصی گیرنده ی بتای استرادیول به بررسی نقش آن در منطقه CA1 هیپوکامپ موش های صحرایی نر بالغ در دستگاه اجتنابی غیر فعال بپردازیم.

## مواد و روش ها

موش های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار (۲۰۰-۲۵۰ گرمی) از بخش پرورش و تکثیر موسسه پاستور ایران تهیه شد. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی (روشنایی از ۷ صبح) و دمای  $23 \pm 2$  درجه سانتی گراد نگهداری شدند و آب و غذا به مقدار کافی در اختیار آنها قرار گرفت. در این مطالعه مطابق با توصیه های بیانیه ی Helsinki و قوانین پذیرفته شده ی بین المللی در ارتباط با حیوانات آزمایشگاهی، با حیوانات رفتار شد.

۷-۸ روز قبل از انجام آزمایش رفتاری حیوانات تحت جراحی قرار می گرفتند. مخلوطی از کتامین (۱۰۰ mg/Kg, i.p) و زایلوزین (۲۵ mg/Kg, i.p) بصورت درون صفاقی بمنظور بیهوش کردن حیوانات تزریق شد [۱۰، ۲۵]. سپس بصورت دو

میلی آمپرو مدت ۱/۵ ثانیه) به کف دست و پاهای حیوان داده می‌شد ۵ ثانیه پس از شوک درب گیوتینی باز شده و زمان خروج موش محاسبه می‌گردد. پس از خروج حیوان ۱۲۰ ثانیه به او اجازه داده می‌شد تا در قسمت روشن باقی بماند، عدم ورود حیوان به ناحیه تاریک به مدت ۱۲۰ ثانیه به عنوان یادگیری (اکتساب) موفق در نظر گرفته می‌شد. در صورت ورود مجدد حیوان به ناحیه تاریک، برای بار دوم شوک اعمال می‌گشت و مجدداً ۱۲۰ ثانیه زمان به حیوان داده می‌شد تا از یادگیری او اطمینان حاصل شود. حیواناتی که بیش از دوبرار شوک دریافت کردند مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار نگرفتند. بمنظور آزمون به خاطر آوری، ۲۴ ساعت پس از آموزش حیوان در قسمت روشن قرار داده شد. پس از ۱۰ ثانیه درب گیوتینی باز شد و مدت زمانی که طول می‌کشد تا حیوان وارد قسمت تاریک شود (STL بعد از آموزش) و همچنین مدت زمانی که حیوان در محفظه تاریک می‌ماند و تعداد دفعات ورود حیوان به قسمت تاریک به مدت ۶۰۰ ثانیه ثبت شد. در تجزیه و تحلیل آماری مطالعه حاضر فقط معیار STL بعد از آموزش و مدت زمان حضور حیوان در محفظه تاریک به کار گرفته شده است [۱۰]. همه آزمایش‌ها در ساعت ۹ تا ۱۱ صبح انجام شده است.

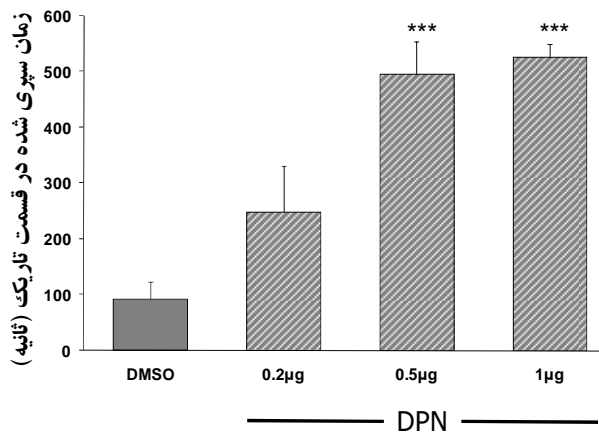
به منظور بررسی اثر تزریق قبل از آموزش دوزهای مختلف Diarylpropionitrile (DPN)، آگونست اختصاصی گیرنده‌ی بتا استرادیول، سیگما) در ناحیه CA1 هیپوکامپ در دستگاه اجتنابی غیرفعال، ۳۲ موش صحرایی نر بالغ (۲۰۰-۲۵۰ گرمی) به چهار گروه ۸ تایی تقسیم شدند. موش‌ها پس از انجام جراحی یک هفته دوره بهبودی را سپری کردند. سپس به گروه کنترل ۳۰ دقیقه قبل از آموزش DMSO تزریق شد و گروه‌های تجربی دوزهای مختلفی از DPN (۰/۲، ۰/۵، ۱ میکروگرم حل شده در ۰/۵ میکرو لیتر DMSO (Dimethyl sulfoxide)) را ۳۰ دقیقه قبل از آموزش دریافت کردند. زمان تاخیر در ورود و زمان سپری شده در اتاق تاریک در طی مرحله بیاد آوری محاسبه شده است.

آزمون آماری مورد استفاده آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way-ANOVA) و آزمون Post Hoc: Tukey بوده است.  $P < 0.05$  به عنوان معیار معنی‌دار بودن اختلاف در نظر گرفته شده است.

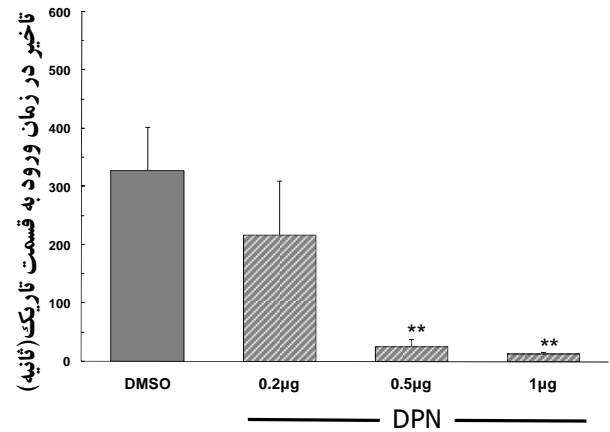
طرفه در منطقه بالای CA1 با استفاده از اطللس پاکسینوس و واتسون (AP: -3.8mm از برگما، ML:  $\pm 2.2$ mm از خط وسط و DV: -2.7mm از سطح جمجمه) کانول گذاری شد. دوپیچ در اطراف کانول‌ها در جمجمه برای ثابت نگه داشتن کانول قرار داده شد و توسط سیمان دندانپزشکی محکم شدند.

تزریق درون هیپوکامپ از طریق کانول‌ها توسط سوزن‌های تزریق (30-gauge) که اندازه آنها نیم میلی متر بلندتر از کانول بود، انجام شد. سوزن تزریق توسط یک لوله پلی اتیلن به سرنگ هامیلتون ۱۰ میکرو لیتری متصل شد. تزریق کلی نیم میکرو لیتر محلول در طی دو دقیقه بوسیله Microinjection Pump انجام می‌شد و سوزن تزریق بمدت یک دقیقه پس از اتمام تزریق در کانول باقی می‌ماند تا از ورود محلول به درون هیپوکامپ اطمینان حاصل شود.

آزمایش رفتاری در دستگاه اجتنابی غیرفعال (شاتل باکس) انجام گرفت. این دستگاه یک جعبه پلکسی گلاس دو قسمتی است که یک بخش آن روشن و یک بخش آن تاریک است. ابعاد دو قسمت با هم برابر است (30cm×20cm×20cm) و با یک درب گیوتینی (8cm×8cm) به هم راه دارند. کف هر دو اتاق با میله‌های استیل ضدزنگ پوشیده شده است ضخامت هر میله ۲ mm است و هر دو میله با فاصله ۱cm از یکدیگر قرار دارند. دو روز قبل از آزمایش حیوانات با شرایط آزمایشگاه آشنا می‌شدند تا استرس آنها در زمان آزمایش به حداقل برسد. به منظور سازش یا عادت حیوان با دستگاه، ۳۰ ثانیه بعد از قرار دادن حیوان در قسمت روشن درب گیوتینی باز و بلافاصله بعد از ورود پاهای عقبی حیوان به قسمت تاریک، درب بسته می‌شد، بعد از ۳۰ ثانیه درب گیوتینی مجدداً باز و زمان خروج موش محاسبه می‌شد. حداکثر زمان برای خروج موش از اتاق تاریک ۳۰ ثانیه است اگر در این مدت از اتاق خارج نشد درب گیوتینی بسته می‌شد و موش از اتاق تاریک خارج گشته و به قفس بازگردانده می‌شد. ۳۰ دقیقه بعد از سازش طی مرحله آموزش یا اکتساب بعد از اینکه حیوان ۱۰ ثانیه را در قسمت روشن سپری کرد درب گیوتینی باز می‌شد (مدت زمانی که طول می‌کشد تا حیوان وارد قسمت تاریک شود، یعنی STL (Step-Through Latency) قبل از آموزش، ثبت می‌شد)، پس از ورود حیوان به اتاق تاریک درب بسته می‌شد و بلافاصله شوک الکتریکی (با فرکانس ۵۰ هرتز، شدت ۱



**نمودار ۲-** تاثیر تزریق دوزهای ۰/۲، ۰/۵ و ۱ میکروگرم DPN در ناحیه CA1 هیپوکامپ موش‌های نر بالغ بر زمان سپری شده در قسمت تاریک در یادگیری و حافظه اجتنابی غیرفعال نشان داده شده است. نتایج بصورت خطای معیار میانگین ( $\pm$ SEM) بوده و تعداد نمونه در هر گروه ۸ و علامت \*\*\* نشان دهنده  $P < 0.001$  در مقایسه با گروه کنترل است. در نمودار DPN مخفف Diarylpropionitrile و DMSO مخفف Dimethyl sulfoxide می‌باشد.



**نمودار ۱-** تاثیر تزریق دوزهای ۰/۲، ۰/۵ و ۱ میکروگرم DPN در ناحیه CA1 هیپوکامپ موش‌های نر بالغ بر تاخیر در ورود به قسمت تاریک در یادگیری و حافظه اجتنابی غیرفعال نشان داده شده است. نتایج بصورت خطای معیار میانگین ( $\pm$ SEM) بوده و تعداد نمونه در هر گروه ۸ و علامت \*\* نشان دهنده  $P < 0.01$  در مقایسه با گروه کنترل است. در نمودار DPN مخفف Diarylpropionitrile و DMSO مخفف Dimethyl sulfoxide می‌باشد.

پس از اتمام دوره آزمایش، موش‌ها با اتر کشته شده و مغز حیوانات خارج می‌گردد، پس از ثابت شدن مغزها در فرمالین ۱۰٪ بوسیله دستگاه میکروتوم (Vibroslice) برش‌های ۱۰۰ میکرونی از آنها تهیه می‌گردد. سپس به کمک میکروسکوپ تشریح محل قرار گرفتن کانال‌ها و تزریق مورد بررسی قرار می‌گیرد. نتایج به دست آمده از هر حیوان تنها در صورتی جهت تجزیه و تحلیل آماری پذیرفته می‌شود که محل کانال‌ها و تزریق در هر دو طرف، در موقعیت صحیح قرار گرفته باشند.

## یافته‌ها

نتایج به دست آمده در طی دو روز آزمایش نشان دادند که بین گروه‌های دریافت کننده دوزهای ۰/۵ و ۱ میکروگرم DPN و گروه کنترل کاهش معنی‌داری در زمان تاخیر ورود به اتاق تاریک (STL) وجود دارد ( $F = 6/5, P < 0/01$ ) (نمودار ۱). همچنین نتایج نشان داد که افزایش معنی‌داری در مدت زمان حضور در اتاق تاریک بین گروه کنترل و گروه‌های دریافت کننده دوزهای ۰/۵ و ۱ میکروگرم DPN وجود دارد ( $P < 0/01, F = 14/5$ ) (نمودار ۲).

مقایسه دو گروه نشان می‌دهد که دوزهای ۰/۵ و ۱ میکروگرم DPN باعث تخریب یادگیری و حافظه اجتنابی غیرفعال در موش‌های صحرایی نر بالغ می‌شود.

## بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد که DPN (دوزهای ۰/۵، ۱µg) بطور معنی‌داری زمان تاخیر در ورود به اتاق تاریک را کاهش می‌دهد در حالیکه مدت زمان حضور در اتاق تاریک را بطور معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل افزایش می‌دهد. این نتایج پیشنهاد می‌کنند که DPN می‌تواند باعث تخریب یادگیری و حافظه اجتنابی غیرفعال شود.

در ارتباط با نقش  $ER\beta$  نظرات مختلفی وجود دارد که این امر نشان دهنده تاثیرات پیچیده استروژن بر اعمال رفتاری است. Fray و همکارانش در مطالعه‌ای نشان دادند که استفاده از تنظیم کننده‌های اختصاصی  $ER\beta$  باعث بهبود عملکرد در مازهای مختلفی از قبیل ماز آبی، ماز بازوی شعاعی و اجتنابی غیرفعال می‌شود [۱۱]. همچنین در مطالعه دیگری Rissman و همکارانش با حذف ژن  $ER\beta$  نشان دادند که مرحله اکتساب در ماز آبی موریس تخریب می‌شود [۳۳]. این در حالی است که در سال ۲۰۰۶ مرادپور و همکارانش نشان دادند که تزریق درون هیپوکامپی استرادیول والرث باعث تخریب حافظه و یادگیری در ماز آبی موریس می‌شود و همچنین بیان کردند که تستوسترون پس از تبدیل به استرادیول اثرات تخریبی بر حافظه و یادگیری دارد [۲۵]. در سالهای اخیر شواهدی به دست آمده که نشان می‌دهد

بتای استرادیول ناحیه CA1 هیپوکامپ باعث تخریب حافظه و یادگیری اجتنابی غیر فعال می‌شوند.

## سپاسگزاری

با سپاس فراوان از مساعدت انستیتو پاستور ایران که هزینه‌های انجام این تحقیق را تقبل نمودند.

## منابع

- [1] Alves S.E , Weiland N.G , Hayashi S , McEwen B.S , Immunocytochemical localization of nuclear estrogen receptors and progesterin receptors within the rat dorsal raphe nucleus. *J Comp Neurol* 391(1998) 322-34.
- [2] Beyer C , Estrogen and the developing mammalian brain. *Anat Embryol* 199 (1999) 379-90.
- [3] Birzniece V, Bäckström T , Johansson IM , Lindblad C , Lundgren P , Lofgren M , Olsson T, et al, Neuroactive steroid effects on cognitive functions with a focus on the serotonin and GABA systems. *Brain Res Rev* 51 (2) (2005) 212-39.
- [4] Blurton-Jones M , Tuszycki M.H , Estrogen receptor-beta colocalizes extensively with parvalbumin-labeled inhibitory neurons in the cortex, amygdala, basal forebrain , and hippocampal formation of intact and ovariectomized adult rats. *J Comp Neurol* 452 (2002) 276-87.
- [5] Bodo C , Rissman E.F, New roles for estrogen receptor β in behavior and neuroendocrinology. *Front Neuroendocrinol* 27 (2006) 217-32.
- [6] Buhot M.C, Wolff M , Benhassine N , Costet P , Hen R , Segu L , Spatial learning in the 5-HT1B receptor knockout mouse: selective facilitation/impairment depending on the cognitive demand. *Learn Memory* 10 (2003) 466-77.
- [7] Buhot M.C , Wolff M , Savova M , Malleret G , Hen R , Segu L , Protective effect of 5-HT1B receptor gene deletion on the age-related decline in spatial learning abilities in mice. *Behav Brain Res* 142 (2003) 135-42.
- [8] Cowley S.M , Hoare S , Mosselman S , Parker M.G , Estrogen receptors alpha and beta form heterodimers on DNA. *J. Biol. Chem* 272 (1997) 19858-62.
- [9] Edinger K.L , Frye C.A , Androgens' effects to enhance learning may be mediated in part through actions at

ارتباطات متقابل مهمی بین سیستم‌های هورمون‌های استروئیدی مغز و سیستم‌های نوروترنسمیتری مانند کولینرژیک [۲، ۳۰]، دوپامینرژیک [۱۵]، گاباارژیک، سروتونرژیک و گلوتاماترژیک [۲، ۲۴] وجود دارد. به همین جهت در اینجا به شرح دو دلیل محتمل می‌پردازیم:

(۱) در نورون‌های گابا ارژیک، ERβ به فراوانی وجود دارد. یافته‌ها نشان می‌دهند که نورون‌های مهاری حاوی ERβ بر روی دیگر نورون‌های گابا ارژیک فاقد گیرنده استروژن منشعب می‌شوند [۴]. سیستم گابا، سیستم مهاری مهمی در مغز است و گیرنده GABAA با فعال کردن موادی از قبیل بنزودیازپین که می‌تواند یادگیری و حافظه را در انسان و حیوان مهار کند، اثر مهاری خود را افزایش می‌دهد [۱۳، ۱۴]. بعلاوه فعال شدن گیرنده GABAA توسط پروپوفول می‌تواند LTP را مهار کند [۵]. با توجه به تمرکز وسیع ERβ در زیرمجموعه‌های نورون‌های مهاری پیشنهاد می‌شود که استرادیول می‌تواند قابلیت تحریک عصبی را در مناطق وسیع و گوناگونی از مغز تنظیم کند که این عمل را با تعدیل آهنگ مهاری در مغز انجام می‌دهد [۴].

(۲) نورون‌های سروتونرژیک نیز گیرنده‌های بتا استروژن را که فاکتورهای رونویسی هستند بیان می‌کنند. سروتونین در عملکرد حافظه نقش مهمی دارد. مطالعات نشان می‌دهند هنگامی که گیرنده 5HT1A و 5HT2C در موش‌ها حذف می‌شوند یادگیری فضایی تخریب می‌شود. استرادیول بیان 5HT1A، 5HT2A mRNA را در هیپوکامپ کاهش می‌دهد و بیان ژن گیرنده 5HT2C را در هیپوکامپ شکمی کم می‌کند [۳]. حذف 5HT1B در موش‌ها حافظه مرجع فضایی وابسته به هیپوکامپ را در ماز آبی موریس تسهیل کرد، اما حافظه جاری را در ماز بازوی شعاعی تخریب کرد [۷، ۱۷۶، ۳۶]. تحریک گیرنده 5HT1B آزادسازی استیل کولین را در هیپوکامپ مهار می‌کند اما تحریک آن باعث آزادسازی استیل کولین در ناحیه قشر پیشانی می‌شود [۶]. کاهش در عملکرد کولینرژیک و سروتونرژیک باعث تخریب جدی حافظه در موش‌های صحرائی جوان و مسن شده است [۳۲]. بنابراین ممکن است DPN بوسیله گیرنده‌های بتا استروژن نورون‌های سروتونین راتحت تاثیر قراردهد و سروتونین نیز از طریق گیرنده 5HT1B باعث تخریب یادگیری و حافظه شود.

بطور کلی این مطالعه نشان می‌دهد که فعالیت گیرنده‌های

- receptor (AR) and AR messenger RNA in the rat hippocampus. *Endocrinology* 136 (1995) 3213–21.
- [21] Krezel W , Dupont S , Krust A , Chambon P , Chapman P. F , Increased anxiety and synaptic plasticity in estrogen receptor beta -deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 98 (2001) 12278–82.
- [22] Kuiper G.G , Enmark E , Peltö-Huikko M , Nilsson S , Gustafsson J.A , Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93 (1996) 5925-30.
- [23] Kuiper G.G , Gustafsson J.A , The novel estrogen receptor-beta subtype: potential role in the cell- and promoter-specific actions of estrogens and anti-estrogens. *FEBS Lett* 410 (1997) 87-90.
- [24] Maxwell J.W , Caroake J.W , Biddle A.P , Sex differences in the comprehension of spatial orientation. *J Psychol* 91 (1975) 127-31.
- [25] Moradpour F , Naghdi N , Fathollahi Y , Anastrozole improved testosterone-induced impairment acquisition of spatial learning and memory in the hippocampal CA1 region in adult male rats. *Behav Brain Res* 175 (2006) 223-32.
- [26] Mosselman S , Polman J , Dijkema R , ER beta: identification and characterization of a novel human estrogen receptor, *FEBS Lett.* 392 (1996) 49–53.
- [27] Mukai H , Takata N , Ishii H.T , Tanabe N , Hojo Y , Furukawa A , Hippocampal synthesis of estrogens and androgens which are paracrine modulators of plasticity. *Synaptocrinology* 138 (2006) 746-57.
- [28] Mukai H , Tsurugizawa T , Ogiue-Ikeda M , Murakami G , Hojo Y , Ishii H , Kimoto T , Kawato S , Local neurosteroid production in the hippocampus: influence on synaptic plasticity of memory. *Neuroendocrinology* 84 (2006) 255-63.
- [29] Osterlund M.K , Gustafsson J.A , Keller E , Hurd Y.L , Estrogen receptor beta (ERbeta) messenger ribonucleic acid (mRNA) expression within the human forebrain: distinct distribution pattern to ERalpha mRNA. *J Clin Endocrinol Metab* 85 (2000) 3840-46.
- [30] Packard M.G , Kohlmaier J.R , Alexander G.M , Post-training intrahippocampal estradiol injections enhance spatial memory in male rats: interaction with cholinergic systems. *Behav Neurosci* 110 (1996) 626-32.
- [31] Register T.C , Shively C.A , Lewis C.E , Expression of estrogen receptor alpha and beta transcripts in female monkey hippocampus and hypothalamus. *Brain Res* 788 estrogen receptor  $\beta$  in the hippocampus. *Neurobiol Learn Mem* 87 (2006) 78-85.
- [10] Eshagh Harooni H , Naghdi N , Sepehri H , Haeri Rohani A , Intra hippocampal injection of impaired acquisition, consolidation and retrieval of inhibitory avoidance learning and memory in adult male rats. *Behav Brain Res* 188 (2007) 71-77.
- [11] Frye CA , Duffy CK , Walf AA. Estrogens and progestins enhance spatial learning of intact and ovariectomized rats in the object placement task. *Neurobio of Learning and Memory* 88 (2007) 208–216.
- [12] Fugger H.N , Foster T.C , Gustafsson J.-Å., Rissman E.F , Novel effects of estradiol and estrogen receptor alpha and beta on cognitive function. *BrainRes* 883(2) (2000) 258–64.
- [13] Ghoneim M.M , Hinrichs J.V , Mewaldt S.P , Dose-response analysis of the behavioral effects of diazepam: I. Learning and memory. *Psychopharmacology (Berl)* 82 (1984) 291-95.
- [14] Gundlach C , Kohama S.G , Mirkes S.J , Garyfallou V.T , Urbanski H.F , Bethea C.L , Distribution of estrogen receptor beta (ERbeta) mRNA in hypothalamus, midbrain and temporal lobe of spayed macaque: continued expression with hormone replacement. *Brain Res Mol Brain Res* 76 (2000) 191-204.
- [15] Handa R.J , Hejna G.M , Lorens S.A., Androgen inhibits neuro-transmitter turnover in the medial prefrontal cortex of the rat following exposure to a novel environment. *Brain Res* 751 (1997) 131-8.
- [16] Harley C.W , Malsbury C.W , Squires A , Brown R.A.M , Testosterone decreases CA1 plasticity in vivo in gonadectomized male rats. *Hippocampus* 10 (2000) 693–7.
- [17] Heisler L.K , Tecott L.H , Knockout Corner: Neurobehavioural consequences of a serotonin 5-HT(2C) receptor gene mutation. *Int J Neuropsychopharmacol* 2 (1999) 67-69.
- [18] Hojo Y , Hattori T.A , Enami T , Furukawa A , Suzuki K , Ishii H.T , Adult male rat hippocampus synthesizes estradiol from pregnanolone by cytochromes P45017 $\beta$  and P450 aromatase localized in neurons. *PANS* 101 (2004) 865-70.
- [19] Kalita K , Szymezak S , Kacsmarck L , Non-nuclear estrogen receptor beta and alpha in the hippocampus of male and female rats. *Hippocampus* 15 (2005) 404–12.
- [20] Kerr J.E , Allore R.J , Beck S.E , Handa R.J , Distribution and hormonal regulation of androgen

- McEwen B.S , Toth M , Impaired hippocampal-dependent learning and functional abnormalities in the hippocampus in mice lacking serotonin(1A) receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97 (2000) 14731-36.
- [37] Sherwin B.B , Tulandi T , "Add-back" estrogen reverses cognitive deficits induced by a gonadotropin-releasing hormone agonist in women with leiomyomata uteri. *J Clin Endocrinol Metab* 81 (1996) 2545-49.
- [38] Tremblay G.B , Tremblay A , Copeland N.G , et al, Cloning, chromosomal localization, and functional analysis of the murine estrogen receptor beta. *Mol Endocrinol* 11 (1997) 353-65.
- [39] Wei H , Xiong W , Yang S , Zhou Q , Liang C , Zeng B.X , Xu L , Propofol facilitates the development of long-term depression (LTD) and impairs the maintenance of longterm potentiation (LTP) in the CA1 region of the hippocampus of anesthetized rats. *Neurosci Lett* 324 (2002) 181-84.
- (1998) 320-22.
- [32] Richter-Levin G , Segal M , Age-related cognitive deficits in rats are associated with a combined loss of cholinergic and serotonergic functions. *Ann N Y Acad Sci* 695 (1993) 254-257.
- [33] Rissman E.F , Heck A.L , Leonard J.E , Shupnik M.A, Gustafsson J-A., Disruption of estrogen receptor gene impairsspatial learning in female mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99(6) (2002) 3996-4001.
- [34] Ruff M , Gangloff M , Wurtz J.M , Moras D , Estrogen receptor transcription and transactivation: Structure-function relationship in DNA- and ligand-binding domains of estrogen receptors. *Breast Cancer Res* 2 (2000) 353-59.
- [35] Rupprecht R , Holsboer F , Neuroactive steroids: mechanisms of action and neuropsychopharmacological perspectives. *Trends Neurosci* 22 (1999) 410-416.
- [36] Sarnyai Z , Sibille E.L , Pavlides C , Fenster R.J ,