



Effect of butylated hydroxytoluene on passive avoidance learning in male rats

Mahnaz Taherianfard^{1*}, Javad Sajedianfard¹, Bita Geramizadeh², Neda Jafari³, Gelareh Haghghatjoo³,
Farzaneh Hoseinnia³

1. Dept. Physiology, School of Vet. Med, Shiraz University, Shiraz, Iran

2. Transplant Research Center, Namazi Hospital, Shiraz, Iran

3. international branch of Shiraz University, Shiraz, Iran

Received: 20 Aug 2011

Accepted: 20 Dec 2011

Abstract

Introduction: Butylated hydroxytoluene (BHT; 2, 6-di-*tert*-butyl-p-cresol) is one of the extensively used antioxidants in the food industry. It is used in low-fat foods, fish products, packaging materials, paraffin, and mineral oils. BHT is also widely used in combination with other antioxidants such as BHA, propyl gallate, and citric acid for the stabilization of oils and high-fat foods. On the other hand, some investigators have reported that BHT has psychotic effects. Therefore, the aim of the present study was to investigate the effect of BHT on learning and memory in a model of passive avoidance learning in male rats.

Methods: Twenty-eight male rats weighting 180-260 g were used. Animals were divided into 4 groups: 1- control group (received sesame oil with the same volume as experimental groups); -2 experimental 1 (received BHT 25 mg/kg/day); 3- experimental 2 (received BHT 100 mg/kg/day) 4- experimental 3 (received BHT 150 mg/kg/day). BHT was administered by oral intake for 15 days. Learning and memory were assessed by a passive avoidance shuttle-box. Data were analyzed by one way ANOVA and Tucky's post-hoc test. The level of significant was set at $P < 0.05$.

Results: Our data showed that BHT at the doses of 25, 100 and 150 mg/kg/day significantly decreased the time spent in light compared to the control group.

Conclusion: According to our results, BHT impairs learning and memory in passive avoidance learning.

Key words: Butylated hydroxytoluene, learning and memory, shuttle-box, male rats

* Corresponding author e-mail: taherian@shirazu.ac.ir
Available online at: www.phypha.ir/ppj

اثر بوتیلید هیدروکسی تولون بر یادگیری احترازی غیر فعال در موش صحرائی

مهناز طاهریانفرد^{۱*}، جواد ساجدیان فرد^۱، بیتا گرامی زاده^۲، ندا جعفری^۳، گلاره حقیقت جو^۳، فرزانه حسین نیا^۳

۱. بخش فیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز

۲. مرکز تحقیقات پیوند، بیمارستان نمازی شیراز، شیراز

۳. دانشگاه بین الملل دانشگاه شیراز، شیراز

پذیرش: ۲۹ آذر ۹۰

دریافت: ۲۹ مرداد ۹۰

چکیده

مقدمه: بوتیلید هیدروکسی تولون یکی از آنتی اکسیدان هایی است که به وفور در صنایع غذایی مورد استفاده قرار می گیرد. این ماده در غذاهای کم چرب، محصولات ماهی، مواد بسته بندی شده، پارافین و روغن های معدنی نیز استفاده می شود. از طرفی بعضی از مطالعات اثرات سمیت روانی بوتیلید هیدروکسی تولون را گزارش کرده اند. بنابراین هدف از مطالعه ی حاضر بررسی اثر بوتیلید هیدروکسی تولون بر یادگیری و حافظه در مدل یادگیری احترازی غیر فعال در موش صحرائی نر است.

روش ها: در این مطالعه از ۲۸ موش صحرائی نر با وزن ۲۶۰-۱۸۰ گرم در ۴ گروه استفاده شد: ۱- گروه کنترل (روغن کنجد با حجمی مشابه گروه آزمایش دریافت کردند). ۲- آزمایشی ۱ (دریافت کننده بوتیلید هیدروکسی تولون دوز ۲۵ mg/kg/day) ۳- آزمایشی ۲ (دریافت کننده بوتیلید هیدروکسی تولون دوز ۱۰۰ mg/kg/day) ۴- آزمایشی ۳ (دریافت کننده بوتیلید هیدروکسی تولون دوز ۱۵۰ mg/kg/day). بوتیلید هیدروکسی تولون به مدت ۱۵ روز به صورت خوراکی استفاده شد. یادگیری و حافظه توسط شاتل باکس انجام شد. یافته ها از طریق آنالیز واریانس یک طرفه و تست تشخیصی توکی آنالیز شد.

یافته ها: داده های ما نشان داد که بوتیلید هیدروکسی تولون در سه دوز ۲۵ و ۱۰۰ و ۱۵۰ mg/kg/day به طور معنی داری باعث کاهش در مدت زمان ماندن در روشنایی در آزمون یادگیری، تثبیت حافظه و حافظه در مقایسه با گروه کنترل می شود.

نتیجه گیری: بر اساس نتایج ما بوتیلید هیدروکسی تولون موجب اختلال در یادگیری و حافظه در روش یادگیری احترازی غیر فعال شد.

واژه های کلیدی: بوتیلید هیدروکسی تولون، یادگیری و حافظه، شاتل باکس، موش صحرائی نر

مقدمه

سلول ها در مسیر شروع تقسیمات میتوزی و تومور قرار بگیرند. او با آنالیز مواد موجود در پتری دیش نشان داد که ماده نانویل فنل (nanoylphenol) که برای جلوگیری از تغییر رنگ و پوسته پوسته شدن به مواد پلاستیکی اضافه می شود توانسته است وارد محیط آبی شده و پس از اتصال با گیرنده های هورمون های استروژن موجود در سلول های پستان موش، باعث تحریک رشد و قرار دادن آنها در مسیر تغییرات سرطانی گردد. یافته علمی او باعث تشویق سایر محققان گردید و تاثیر

در سال ۱۹۸۵ دکتر سوتو در بررسی سلول های پستانی موش که در یک پتری دیش پلاستیکی برای یک هفته نگهداری شده بود، متوجه گردید عاملی باعث شده است که این

taherian@shirazu.ac.ir

www.phypha.ir/ppj

* نویسنده مسئول مکاتبات:

وبگاه مجله:

مختلف انسان از جمله کبد، شش ها، کلیه ها و ... تحمیل می کند، موجب اختلال در متابولیسم لیپیدهای کبد و فاکتورهای انعقادی خون شده، و ماده ای کارسینوژن و تراژوژن است [۱]، [۵، ۱۸]. تاکنون در خصوص اثر این ماده بر سیستم عصبی کارهای بسیار مختصری انجام شده است. لذا با توجه به کاربرد زیاد این ماده و با توجه به اینکه گزارشات مختصری در خصوص اثرات این ماده بر مغز وجود دارد، هدف مطالعه حاضر بررسی اثر ماده بوتیلید هیدروکسی تولوئن بر یادگیری و حافظه در مدل یادگیری احترازی غیرفعال در موش صحرایی نر است.

مواد و روش ها

برای آزمایشات از ۲۸ موش صحرایی نر در ۴ گروه ۷ تایی از نژاد Sprague-Dawley با سن تقریبی ۱۸ هفته و وزن ۲۶۰-۱۸۰ گرم که از مرکز حیوانات دانشکده پزشکی خریداری شدند، استفاده گردید. کلیه حیوانات ۲ هفته قبل از شروع آزمایشات به منظور سازگاری با شرایط محیط در قفس های پلکسی گلاس استاندارد نگهداری شدند. غذا و آب آزادانه در اختیار آن ها قرار داشت. حیوانات در درجه حرارت کنترل شده (22 ± 2) نگهداری شدند و شرایط نوری ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی در نظر گرفته شد (ساعت ۶ صبح تا ۶ عصر شرایط نوری). حیوانات در ۴ گروه مورد بررسی قرار گرفتند: گروه ۱: کنترل، در این گروه روغن کنجد بعنوان حلال ماده بوتیلید هیروکسی تولوئن استفاده شد. گروه ۲: آزمایشی ۱، بوتیلید هیدروکسی تولوئن دوز ۲۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز استفاده شد. گروه ۳: آزمایشی ۲، بوتیلید هیدروکسی تولوئن دوز ۱۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز استفاده شد. گروه ۴: آزمایشی ۳، بوتیلید هیدروکسی تولوئن دوز ۱۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در روز استفاده شد. پس از این که حیوانات دوره سازگاری با شرایط محیط را طی کردند، تمامی گروه ها به مدت ۱۵ روز، هر روز از ساعت ۹ تا ۱۰ صبح گاوژ شدند و دارو و یا روغن کنجد مستقیماً در معده آنها فرستاده شد.

پس از اتمام دوره گاوژ، بلافاصله مرحله القاء یادگیری احترازی غیر فعال آغاز شد. برای انجام یادگیری از دستگاه

بسیاری از مواد شیمیایی در این زمینه مورد بررسی قرار گرفته است [۱۵].

اثرات تماس با مواد شیمیایی در زمان های خاصی از زندگی (دوران جنینی، بلوغ و ...) ممکن است تشدید گردد [۱۰، ۱۷]. دانشمندان ارتباط بین مواد شیمیایی و افزایش ابتلا به برخی از بیماری ها از قبیل کاهش تعداد اسپرم در مردان، افزایش موارد سرطان پروستات، پستان، بیضه و اختلالات عصبی و یادگیری در کودکان را به افزایش تماس جامعه با مواد شیمیایی در چند دهه اخیر مرتبط دانسته اند [۹، ۱۴]. برای معرفی این مواد شیمیایی که خاصیت ورود و تجمع در بدن (بخصوص در بافت چربی)، اتصال به گیرنده های هورمونی و اختلال در فعالیت سیستم طبیعی اندوکراین بدن را دارند اسامی مختلفی همچون هورمون های محیطی، استروژن های محیطی، زنواستروژن ها، فیتواستروژن ها، مواد بر هم زننده تعادل سیستم اندوکراین و مواد شبه استروژنی استفاده شده است. یکی از زنواستروئیدهای مهم بوتیلید هیدروکسی تولوئن یا BHT است.

BHT یا ۲-دی-ترت-بوتیل-۴-متیل فنول در طبیعت به صورت ذاتی وجود ندارد و توسط بشر ساخته شده، این ماده ابتدا در سال ۱۹۴۷ برای مصارف صنعتی تولید پلاستیک و سایر محصولات نفتی حق امتیاز گرفت و در سال ۱۹۵۴ بخاطر خاصیت آنتی اکسیدانی اش به عنوان ماده ای بی خطر برای مصارف خوراکی و استفاده در صنایع غذایی به FDA پیشنهاد شد و حق امتیاز گرفت، پس از آن تحقیقات بیشتری روی این ماده انجام نگرفت و موارد مصرفی آن روز به روز افزایش یافت در محصولات آرایشی به عنوان ماده ای که پروسه پیری را به تاخیر می اندازد و حتی افزایش طول عمر اثرات مثبتی نیز در زمینه ی درمان ویروس هایی مانند هرپس و HIV مشاهده شد و موجب شد که BHT به همراه برخی مواد دیگر مانند ویتامین C و L-lysine استفاده شود [۲۰، ۲۱]. این خصوصیات موجب شد که BHT به عنوان یکی از پرمصرف ترین آنتی اکسیدان های مورد استفاده غذاهای کنسروی و بسته بندی های صنایع غذایی شناخته شود، سازمان سلامت جهانی در سال ۱۹۹۴ دستور ارزیابی مجدد این ماده را داد و طی این تحقیقات مشخص شد که BHT با وجود اثرات مثبتی که در محدوده زندگی داشته، اثرات مضر را نیز بر ارگان های

بمانند؛ علی رغم اینکه اصولاً جوندگان به تاریکی علاقه بیشتری دارند. لذا معیار بررسی تست های آماری و اعدادی که تست آماری روی آنها انجام شد، مدت زمان ماندن در محفظه روشن بود. لازم به ذکر است که تمامی جلسات القاء یادگیری احترازی غیر فعال در گروه های تحت یادگیری از ساعت ۸:۳۰ الی ۹:۳۰ صبح انجام گرفت.

در این تحقیق با استفاده از برنامه ی آماری SPSS (version 18) داده ها مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعه جهت مقایسه مدت ماندن در روشنایی در گروه های مختلف و مراحل مختلف تست یادگیری و حافظه از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه و تست تشخیصی دانکن استفاده گردید. سطح معنی داری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد. در ضمن داده ها در بخش نتایج به صورت خطای معیار \pm میانگین در نظر گرفته شد.

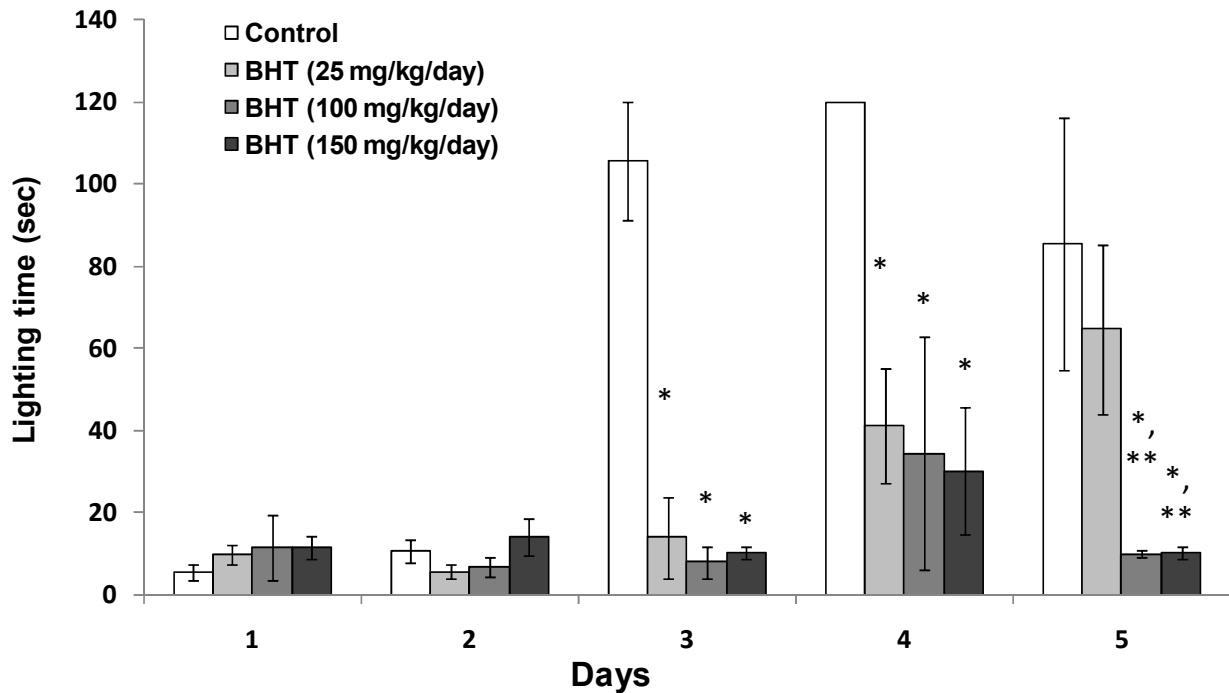
یافته ها

یافته های اثر بوتیلیند هیدروکسی تولوئن در سه دوز ۲۵ و ۱۰۰ میلی گرم به ازای یک کیلوگرم وزن بدن در هر روز بمدت ۱۵ روز بر یادگیری احترازی غیر فعال، به شرح زیر بدست آمد.

مدت زمان ماندن در روشنایی در گروه های مختلف و در روزهای مختلف تست به شرح زیر می باشد. روز اول، آشنایی با دستگاه شاتل باکس ($2 \pm 4/5$ ، $5/8 \pm 2/5$ ، $9/8 \pm 7/8$ ، $11/6 \pm 7/8$ ، $11/5 \pm 2/8$) روز دوم، اولین جلسه یادگیری ($2/7 \pm 10/6$ ، $5/7 \pm 11/7$ ، $6/75 \pm 2/4$ ، $14/2 \pm 4/4$) روز سوم، دومین جلسه یادگیری ($3/14 \pm 10/5$ ، 10 ± 14 ، $8 \pm 3/8$ ، $10/3 \pm 11/7$) روز چهارم، تثبیت حافظه (0 ± 12 ، $41/3 \pm 13/9$ ، $34/5 \pm 28/5$) روز پنجم، بررسی بقای حافظه (30 ± 15 ، $64/7 \pm 20/6$ ، 6 ± 1 ، $10/3 \pm 11/5$).

نتایج آزمایش در روزهای ۲-۱ نشان داد که هیچ اختلافی در مدت زمان ماندن در روشنایی در مقایسه با گروه کنترل وجود ندارد (شکل ۱). اما در روز سوم، که در واقع دومین جلسه یادگیری می باشد (در طی جلسه ی اول یک بار شوک داده شده) گروه کنترل اختلاف معنی داری ($P < 0.05$) در مقایسه با گروه های بوتیلیند هیدروکسی تولوئن نشان داد، این بدان معنی

شاتل باکس استفاده شد. القاء یادگیری احترازی غیر فعال در حیوان مورد مطالعه شامل ۵ روز و در هر روز یک جلسه می باشد. روز اول جهت آشنایی با دستگاه، روز دوم و سوم جهت یادگیری و روز چهارم جهت تثبیت حافظه و روز پنجم به عنوان بقا حافظه در نظر گرفته شد. در روز نخست، گروه های تحت یادگیری حیوانات به طور جداگانه و به مدت ۲ دقیقه جهت سازش پذیری و آشنایی با دستگاه شاتل باکس در آن قرار داده شدند. در این حالت درپچه ی بین دو محفظه ی تاریک و روشن باز بوده و حیوانات می توانستند آزادانه و بدون آنکه شوکی به پای آن ها وارد شود، بین دو محفظه رفت و آمد کنند. این سازش پذیری ۳۰ دقیقه ی بعد هم تکرار شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت آزمایش شروع گردید. دتکتور دستگاه، بر اساس شدت شوک $0/6$ میلی آمپر، زمان تأخیر در شوک دهی ۱ ثانیه و زمان شوک دهی نیز ۱ ثانیه تنظیم شد. سپس حیوانات به طور جداگانه و به آرامی در منتهی الیه ناحیه ی روشن و در سمت مخالف درپچه قرار داده شدند. زمانی که حیوان طوری به ناحیه ی تاریک وارد می شد که هر ۴ پای آن روی میله های فلزی قرار می گرفت، درب کشویی بسته شده و با بسته شدن درب کلیدی که در گوشه ی پایین سمت راست ناحیه ی روشن درپچه تعبیه شده بود فعال شده و شوک الکتریکی در یک ثانیه به کف پای حیوان وارد می شد و توسط دستگاه مدت زمان حضور موش در ناحیه روشن ثبت می گردید. پس از پایان شوک دهی، حیوانات بلافاصله از دستگاه خارج شده و در قفس های خود قرار می گرفتند در این جلسه از یادگیری در صورتی که حیوان برای ورود به ناحیه ی تاریک بیش از ۶۰ ثانیه تأخیر می کرد، از آزمایش حذف می شد. سومین روز مشابه روز دوم انجام گرفت. در روز چهارم به منظور تثبیت حافظه مانند روز دوم اما به موش شوک وارد نشد و فقط مدت زمان حضور موش در ناحیه روشن را ثبت گردید. در آزمایش بقای حافظه در صورتی که حیوان بیش از ۱۲۰ ثانیه از ورود به ناحیه ی تاریک احتراز می کرد، به عنوان معیار انجام کامل یادگیری و احتراز کامل در نظر گرفته می شد. در نهایت روز پنجم مشابه روز چهارم انجام شد و به عنوان بقای حافظه در نظر گرفته شد. در این نوع یادگیری با توجه به اینکه در محفظه تاریک امکان وارد کردن شوک الکتریکی وجود دارد، حیوانات یاد می گیرند که در محفظه روشن باقی



شکل ۱- اثر دوزهای مختلف بوتیلید هیدروکسی تولون بر یادگیری احترازی غیر فعال طی ۵ روز، * سطح معنی داری نسبت به گروه کنترل، ** سطح معنی داری نسبت به دوز پایین بوتیلید هیدروکسی تولون

زنواستروئیدها باعث اختلال در عملکرد هورمونها می شوند، در حالیکه شواهدی نیز وجود دارد که زنواستروئیدها سایر سیگنالینگ های سلولی را نیز مختل می کنند. این ترکیبات بر ارگان های مختلف در مراحل مختلف سنی می توانند با درجات متفاوتی اثر کنند، اما عمده ترین اثرات آنها از طریق اختلال و تخریب گیرنده های غشایی استروژن در سیستم عصبی می باشد [۱۹]. زنواستروئیدها دارای ویژگی توام آگونیست و آنتاگونیست گیرنده های استروژن هستند [۸]. گیرنده های غشایی استروژن در سلول های گلیال و سلول های عصبی در هیپوکامپ موش صحرائی بیان می شود. در معرض زنواستروژن ها قرار گرفتن در دوران جنینی باعث تغییر در بیان ژن استروژن ها در هیپوکامپ می شود [۱۲]. بنابراین این مواد نقش مهمی در بسیاری از توانایی های شناختی در مهره داران رده بالا از جمله انسان دارد [۶].

از طرفی زنواستروئیدها با تداخلی که در سیستم استروژنی بدن ایجاد می کنند، در بعضی اوقات باعث تحریک بیش از حد تولید استروژن ها شده و در مقابل این تحریک بیش از حد سیستم های جبرانی بدن وارد عمل شده و باعث اختلالاتی در سیستم هورمونی می شوند [۷]. استروژن بسیاری از پاسخ های تکاملی و فیزیولوژیکی در سلولهای هدف را بوسیله تنظیم

است که مقایسه مدت زمان ماندن در روشنایی در روز ۳ آزمایش به طور معنی داری ($P < 0.05$) افزایش یافته است. (شکل ۱). اختلاف معنی داری بین دوزهای مختلف بوتیلید هیدروکسی تولون مشاهده نشد (شکل ۱).

در روز چهارم (تثبیت حافظه) مدت زمان باقی ماندن در روشنایی در هر سه گروه به طور معنی داری ($P < 0.05$) نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است، اما اختلاف معنی داری بین دوزهای بوتیلید هیدروکسی تولون مشاهده نشد (شکل ۱).

طی روز پنجم که به منظور بررسی بقای حافظه (مدت زمان ماندن در روشنایی) آزمایش انجام شد، دوزهای ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم به ازای یک کیلوگرم وزن بدن در هر روز بوتیلید هیدروکسی تولون، بقای حافظه را به طور معنی داری ($P < 0.05$) در مقایسه با گروه دوز پایین بوتیلید هیدروکسی تولون و کنترل کاهش داد. این نتایج نشان می دهد که بوتیلید هیدروکسی تولون موجب اختلال در یادگیری، تثبیت و بقای حافظه در روش یادگیری احترازی غیر فعال می شود.

بحث

آنچه که بطور معمول شایع است این است که

یادگیری و حافظه اثرات متناقضی مشاهده شده است، در معرض بوتیلیند هیدروکسی تولوئن قرار گرفتن در مرحله جنینی باعث کاهش خواب و یادگیری و افزایش پرخاشگری شده است. بنظر میرسد که اثرات سوء بوتیلیند هیدروکسی تولوئن بر یادگیری و حافظه در مرحله جنینی خیلی بیشتر از در معرض قرار گرفتن در بعد از تولد و در بالغین می باشد [۱۶].

در بررسی زنواستروئیدها و اثرات آنها بر یادگیری، بیان شده است که این اثرات به چند عامل سن، جنس، و نوع تست یادگیری بستگی دارد [۲]. همچنین زنواستروئیدهایی که از سد خونی مغز عبور می کنند، اثراتشان بصورت کاهش یادگیری و حافظه می باشد، با توجه به اینکه بوتیلیند هیدروکسی تولوئن علی رغم اینکه از طریق خوراکی وارد بدن می شود اما از سد خونی مغز عبور میکند، لذا اثرات آن بر یادگیری و حافظه نیز بخوبی آشکار است و این امر در این مطالعه مشاهده شد.

با توجه به اینکه هورمون استروژن باعث تقویت حافظه می شود، در مطالعه چاپ نشده ای ما با حذف تخمدان اختلال در یادگیری و حافظه را مشاهده کردیم، و با توجه به اینکه بوتیلیند هیدروکسی تولوئن دارای خاصیت استروژنی است، بنظر می رسد که این ماده دارای خاصیت آگونیست جزئی استروژن باشد و بنابراین باعث اختلال در یادگیری و حافظه شده است.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله، بدین وسیله تقدیر و تشکر خود را از صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور و دانشگاه علوم پزشکی شیراز که تحقیق حاضر را از جهت مالی حمایت کرده است، ابراز می دارند.

References

[1] Devi RS, Narayan S, Mohan KV, Sabitha KE, Devi CS, Effect of a polyherbal formulation, Ambrex, on butylated hydroxy toluene (BHT) induced toxicity in rats. *Indian J Exp Biol* 41 (2003) 1294-1299.

[2] Dohanick G, Ovarian steroids and cognitive function. *Curr Dir Psychol* 12 (2003) 57-61.

[3] Everss E, Parra A, Inhibition avoidance with a two-way shuttle-box. *Psicothema* 10 (1998) 387-391.

ژن های خاصی تحت تاثیر قرار می دهد [۶]. استروژن می تواند مسیر هیپوتالاموس-هیپوفیز-غدد فوق کلیوی و ترشح کورتیکواستروئیدها را تحت تاثیر قرار دهد و این اثرات در تعدیل morris water maze اهمیت دارد [۱۳]. میزان زیاد استروژن در پلاسمای موش های صحرایی ماده ی بالغ فاکتور مهمی برای بیان افزایش یادگیری می باشد. همچنین در موشهای صحرایی ماده استروژن ورودیهای کولینژریک به هیپوکامپ را افزایش داده که این خود موجب افزایش گیرنده-های NMDA در سلولهای پیرامیدال ناحیه CA1 هیپوکامپ می شود [۱۱].

سالهاست که ترکیباتی چون بوتیلیند هیدروکسی تولوئن بعنوان آنتی اکسیدان در مواد غذایی حاوی چربی و مواد پروتئینی در کشورهای مختلف جهان مورد استفاده قرار می گیرند. بوتیلیند هیدروکسی تولوئن با گیرنده غشایی استروژن باند می شود، اما خاصیت استروژنی آن بیش از ۷ برابر کمتر از استروژن است [۶]. در مطالعاتی که بعضی از رودخانه های آلمان صورت گرفته متوجه شدند که بوتیلیند هیدروکسی تولوئن با دوز تقریباً ۱۷۸ نانوگرم در لیتر قابل اندازه گیری است، سپس با بررسی آبهای زیر زمینی متوجه شدند که این ماده با غلظت ۱۳۲ نانوگرم در لیتر وجود دارد [۴].

در مطالعه حاضر، شدت شوک ۰/۶ میلی آمپر (برای یک ثانیه) بود. Parra و Everss نشان دادند که شدت شوک ۰/۶ میلی آمپر برای تولید یادگیری مهارتی شرطی کافی است [۳]. در مطالعه حاضر در معرض بوتیلیند هیدروکسی تولوئن قرار گرفتن در موش های صحرایی بالغ نژاد اسپراگ داوولی منجر به اختلالاتی در یادگیری و حافظه شد، که این اختلالات بصورت وابسته به دوز می باشد. در خصوص اثر زنواستروئیدها بر

[4] Fries E, Puttmann W, Monitoring of the antioxidant BHT and its metabolite BHT-CHO in German river water and ground water. *Sci Total Environ* 319 (2004) 269-282.

[5] Guyton KZ, Dolan PM, Kensler TW, Quinone methide mediates in vitro induction of ornithine decarboxylase by the tumor promoter butylated hydroxytoluene hydroperoxide. *Carcinogenesis* 15 (1994) 817-821.

[6] Jobling S, Reynolds T, White R, Parker MG, Sumpter JP, A variety of environmentally persistent chemicals,

- including some phthate plasticizers, are weakly estrogenic. *Environ Health Perspect* 103 (1995) 582-587.
- [7] Kushner PJ, Hort E, Shine J, Baxter JD, Greene GL, Construction of cell lines that express high levels of the human estrogen receptor and are killed by estrogens. *Mol Endocrinol* 4 (1990) 1465-1473.
- [8] MacDonnell DP, The molecular pharmacology of SERMs. *Trends Endocrinol Metab* 10 (1999) 301-311.
- [9] Markey CM, Coombs MA, Sonnenschein C, Soto AM, Mammalian development in a changing environment: exposure to endocrine disruptors reveals the developmental plasticity of steroid-hormone target organs. *Evol Dev* 5 (2003) 67-75.
- [10] Rittler M, Castilla EE, Endocrine disruptors and congenital anomalies. *Cad Saude Publica* 18 (2002) 421-428.
- [11] Romeo RD, Cook-Wiens E, Richardson HN, Sisk CL, Dihydrotestosterone activates sexual behavior in adult male hamsters but not in juveniles. *Physiol Behav* 73 (2001) 579-584.
- [12] Rune GM, Frotscher M, Neurosteroid synthesis in the hippocampus: role in synaptic plasticity. *Neurosci* 136 (2005) 833-842.
- [13] Sandi C, Stress, cognitive impairment and cell adhesion molecule. *Nat Rev Neurosci* 5 (2004) 917.
- [14] Singleton DW, Khan SA, Xenoestrogen exposure and mechanisms of endocrine disruption. *Front Biosci* 8 (2003) s110-118.
- [15] Soto A, Sonnenschein C, The role of estrogens on the proliferation of human breast tumor cells (MCF-7). *J Steroid Biochem* 23 (1985) 87-94.
- [16] Stokes JD, Scudder CL, The effect of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene on behavioral development of mice. *Dev Psychobiol* 7 (1974) 343-350.
- [17] Sweeney T, Is exposure to endocrine disrupting compounds during fetal/post-natal development affecting the reproductive potential of farm animals? *Domest Anim Endocrinol* 23 (2002) 203-209.
- [18] Tamizhselvi R, Samikkannu T, Niranjali S, Pulmonary phospholipid changes induced by butylated hydroxytoluene, an antioxidant, in rats. *Indian J Exp Biol* 33 (1995) 796-797.
- [19] Watson CS, Bulayeva NN, Wozniak AL, Alyea RA, Xenoestrogens are potent activators of nongenomic estrogenic responses. *Steroids* 72 (2007) 124-134.
- [20] Williams GM, Iatropoulos MJ, Whysner J, Safety assessment of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene as antioxidant food additives *Food Chem Toxicol* 37 (1999) 1027-1038.
- [21] Zurkovsky L, Brown SL, Korol DL, Estrogen modulates place learning through estrogen receptors in the hippocampus. *Neurobiol Learn Mem* 86 (2006) 336-343.