

The effects of estradiol on different stages of memory extinction in post-traumatic stress disorder

Amerian F¹, Abrari K^{1*}, Goudarzi I^{1*}, Elahdadi-Salmani M¹

Department of Biology, Faculty of Biology, Damghan University, Damghan, I. R. Iran.

Received January 19, 2015; Accepted October 19, 2015

Abstract:

Background: One of the main symptoms of post-traumatic stress disorder (PTSD), as an anxiety disorder, is a disability to forget the traumatic event. The aim of this study was to evaluate the effects of estradiol on different stages of conditioned fear memory extinction in PTSD.

Materials and Methods: For PTSD induction, combination of Shock and Single Prolonged Stress model (S+SPS) was used. In order to assess conditioned fear memory extinction, 7 days after PTSD induction, animals were placed back into the shock chamber for 9 minutes without receiving any electric shock and their freezing behavior was measured in this time (3 sections, each section 3 min). The first test is an index of extinction learning. The second test, as same as the first one, was performed one day after the first test. During the second test, retrieval and reconsolidation of memory extinction were occurred. Estradiol injection (90, 180 and 360 µg/kg) in treated groups or vehicle injection (the control group) was done half an hour before the tests.

Results: Results showed that estradiol administration, at the dose of 180 µg/kg, significantly decreased the freezing behaviors in all three sections of the two tests.

Conclusion: Estradiol has a dose-dependent effect on acquisition, retrieval and consolidation of fear memory extinction in PTSD animals. Subcutaneous injection of 180µg/kg estradiol can enhance all three phases, acquisition, consolidation and retrieval of fear memory extinction.

Keywords: Post-traumatic stress disorder, Estradiol, Single prolonged stress, Electric shock

*** Corresponding Author.**

Email: abrari@du.ac.ir

Tel: 0098 23 352 20237

Fax: 0098 23 352 20237

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, December, 2015; Vol. 19, No 5, Pages 364-371

Please cite this article as: Amerian F, Abrari K, Goudarzi I, Elahdadi-Salmani M. The effects of estradiol on different stages of memory extinction in post-traumatic stress disorder. *Feyz* 2015; 19(5): 364-71.

اثرات استراديول بر مراحل مختلف خاموشی حافظه در مدل اختلال استرس پس از سانحه

فاطمه عامريان^۱، کتاهه ابراری^۲، ایران گودرزی^۲، محمود الدادی سلمانی^۲

خلاصه:

سابقه و هدف: مهم‌ترین علامت بیماری PTSD (Post-traumatic stress disorder) است، عدم توانایی فراموش کردن حادثه ترومایی است. هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثرات استراديول بر مراحل مختلف خاموشی حافظه ترس شده در PTSD است.

مواد و روش‌ها: الگا PTSD با استفاده از مدل تلفیقی تک استرس طولانی مدت و شوک (S+SPS) صورت گرفت. ۷ روز بعداز القا بیماری حیوانات برای ارزیابی خاموشی حافظه ترس شرطی شده (تست اول)، بهمدت ۹ دقیقه بدون دریافت شوک در دستگاه ترس شرطی قرار گرفتند. میزان بی‌حرکتی حیوان در ۳ بازه زمانی ۳ دقیقه‌ای ثبت شد. تست اول، شاخصی از فرایند اکتساب خاموشی است. تست دوم به فاصله یک روز پس از تست اول و به همان صورت انجام شد؛ در طی این تست حافظه خاموشی به‌خاطرآوره شده و مجدداً ثبیت می‌گردد. تزریق استراديول ($\mu\text{g}/\text{kg}$) ۹۰، ۱۸۰ و ۳۶۰ در گروه‌های تیمار و یا حلال (در گروه کنترل) نیم ساعت قبل از تست‌ها انجام می‌شد.

نتایج: آنالیز داده‌ها نشان داد که میزان بی‌حرکتی در حیواناتی که استراديول را با دوز $\mu\text{g}/\text{kg}$ ۱۸۰ دریافت کرده بودند، به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل، در هر سه بخش تست‌های اول و دوم کمتر شد.

نتیجه‌گیری: استراديول به صورت وابسته به دوز بر اکتساب، به‌خاطرآوری و ثبیت خاموشی حافظه ترس شرطی شده در حیوانات دچار PTSD موثر است. تزریق زیر جلدی استراديول با دوز $\mu\text{g}/\text{kg}$ ۱۸۰، منجر به تقویت هر سه مرحله‌ی اکتساب، به‌خاطرآوری و ثبیت خاموشی حافظه ترس شرطی شده گردید.

واژگان کلیدی: اختلال استرس پس از سانحه، استراديول، تک استرس طولانی مدت، شوک الکتریکی

دو ماهنامه علمی- پژوهشی فیض، دوره نوزدهم، شماره ۵، آذر و دی ۱۳۹۴، صفحات ۳۷۱-۳۶۴

این مراحل در هیپوکمپ اتفاق می‌افتد. بعد از مدتی، حافظه از هیپوکمپ خارج می‌شود و در نوکورتکس ذخیره می‌شود. در نوکورتکس ابتدا به صورت حافظه کوتاه مدت و بعد به صورت حافظه دور ذخیره می‌شود [۴]. بعد از ثبیت حافظه اگر به‌خاطر آوری صورت گیرد حافظه پایدار به صورت ناپایدار درمی‌آید، سپس این حافظه یا مجدداً ثبیت می‌شود یا فراموش می‌شود [۲]. یکی از مدل‌های پرکاربرد حیوانی به‌منظور مطالعات خاموشی حافظه مدل شرطی شدن کلاسیک است. در این مدل حیوان بین محرك شرطی (صدا یا شرایط محیطی) و محرك غیر شرطی (شوک الکتریکی) ارتباط برقرار می‌کند؛ بدنهایی که پس از یادگیری، حیوان نسبت به محرك شرطی که ذاتاً محرك خشی است، شرطی می‌شود. خاموشی حافظه شرطی با اعمال محرك شرطی به مدت طولانی بدون محرك غیر شرطی صورت می‌گیرد. با خاموشی، پاسخ‌های شرطی به آرامی کاهش می‌یابند. در واقع خاموشی حافظه، نوع دیگری از یادگیری است که در آن عدم ارتباط بین محرك شرطی و محرك غیر شرطی یاد گرفته می‌شود. همانند انواع یادگیری، خاموشی حافظه نیز در سه فاز اتفاق می‌افتد: اکتساب، ثبیت و به‌خاطر آوری [۵-۳]. اختلال استرسی پس از حادثه (PTSD) یک عارضه روانی است که در فرد پس از قرار گرفتن در معرض حوادث بسیار دردناک یا تکان دهنده ایجاد می‌-

مقدمه

یادگیری فرآیند کسب اطلاعات از دنیای اطراف و حافظه توان نگهداری آثار هر نوع یادگیری است. حافظه دارای مراحل پنج گانه زیر است: رمزگذاری Encoding (تبدیل اطلاعات به نوعی رمز قابل پردازش)، ۲- ذخیره سازی یا ثبیت-Consolidation (فرآیند نگهداری اطلاعات رمزگذاری شده)، ۳- به-خاطرآوری Retrieving (یادآوری و فراخوانی اطلاعات از مراکز ذخیره شده)، ۴- ثبیت مجدد Reconsolidation (ذخیره مجدد حافظه فراخوانده شده) و ۵- خاموشی Extinction (فراموشی حافظه فراخوانده شده) [۱]. ابتدا حافظه به صورت حافظه کوتاه مدت ذخیره شده و بعد از مدتی طی فرایند ثبیت، به حافظه بلندمدت تبدیل می‌شود.

^۱ کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه زیست عمومی، دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه دامغان

^۲ استادیار، گروه زیست عمومی، دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه دامغان

*نشان نویسنده مسئله؛

دامغان، دانشگاه دامغان، دانشکده زیست‌شناسی، کدپستی: ۳۶۷۱۶-۴۱۱۶۷
تلفن: ۰۲۳۳۵۲۲۰۲۳۷
دانشگاه دامغان، دانشکده زیست‌شناسی، کدپستی: ۳۶۷۱۶-۴۱۱۶۷
تلفن: ۰۲۳۳۵۲۲۰۲۳۷

پست الکترونیک: abrari@du.ac.ir

تاریخ پذیرش نهایی: ۹۴/۷/۲۷
تاریخ دریافت: ۹۴/۷/۲۹

گذاری بر این نواحی می‌تواند بر خاموشی حافظه موثر باشد. با توجه به اثرات ذکر شده استروژن بر حافظه وجود اختلال حافظه در بیماران مبتلا به PTSD بر آن شدیدم تا اثرات بتا استرادیول را بر مراحل مختلف خاموشی حافظه در این بیماری بررسی کنیم.

مواد و روش‌ها

موش‌های نر نژاد ویستار با سن تقریبی ۲ تا ۳ ماه و وزن ۱۸۰-۲۰۰ گرم از مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی ایران واحد کرج تهیه شد. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت تاریکی ۱۲ ساعت روشنایی و در حالی که آب و غذا (به صورت پلت) را آزادانه در اختیار داشتند، نگهداری شدند. نگهداری حیوانات در محدوده دمایی حدود ۲۰-۲۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۴۰-۵۰ درصد صورت گرفت. اصول اخلاقی کار با حیوانات بر اساس دستور کار کمیته اخلاقی دانشکده زیست‌شناسی دانشگاه دامغان رعایت شد. به منظور القا PTSD از مدل تلفیقی شوک الکتریکی و Shock and Single Prolonged Stress = S+SPS (استفاده شد [۱۳]؛ به این ترتیب که حیوانات ۵ روز، روزانه یک شوک الکتریکی ۱ mA به مدت ۲ ثانیه دریافت کردند. روز بعد مدل سه مرحله‌ای SPS را به شرح زیر تجربه کردند: در مرحله اول، حیوانات ۲ ساعت در مقید کننده بی‌حرکت نگه داشته شدند. در مرحله دوم، بلا فاصله بعد از خروج از مقید کننده، حیوانات به مدت ۲۰ دقیقه در ظرفی استوانه‌ای شکل جهت شنای اجباری قرار گرفتند و ۱۵ دقیقه بعد، با دی‌ای‌تل اتر بی‌هوش شدند (مرحله سوم). شوک الکتریکی توسط سیستم ترس شرطی کننده (CFS = Conditioned Fear System)، ساخت کشور آمریکا، اعمال شد. این سیستم شامل محفظه‌ای مکعب مستطیل شکل از جنس پلاستیک شفاف به ابعاد ۴۵×۴۵×۴۷ سانتی‌متر است. کف محفظه از میله‌های ضد زنگ به تعداد ۲۸ عدد و با قطر ۶ میلی‌متر تشکیل شده است که به فواصل ۱۲ میلی‌متر از یکدیگر قرار دارند و به منظور اعمال شوک الکتریکی (به عنوان محرک شرطی) به حیوان به کار می‌رود. درب محفظه از جنس پلاستیک شفاف و قابل باز شدن است. به منظور تنظیم متغیرهای آزمایش و ثبت داده‌ها و تجزیه و تحلیل اطلاعات، سیستم به رایانه‌ای مجهز به نرم‌افزار Ethovision متصل است که حرکات مختلف حیوان چون پریدن، جابه‌جا شدن، و بی‌حرکتی به کمک نرم‌افزار ثبت می‌گردد. سقف محفظه مجهز به لامپ و دوربین فیلم برداری بوده و کف آن سینی قابل برداشتن دارد که امکان پاک‌سازی محفظه را از فضولات حیوانی فراهم می‌سازد. این سیستم هم به منظور اعمال شوک الکتریکی و هم

شود. علائم PTSD می‌تواند بعد از یک تاخیر چند هفته‌ای و یا چند ماهه و معمولاً در طی ۶ ماه پس از حادثه ناگوار ظاهر می‌گردد. از علائم PTSD می‌توان به افسردگی، اضطراب، اختلال در خواب، تحریک پذیری و عصبانیت، واکنش احساسی به استرس که اغلب با دردهای عضلانی همراه است، ضربان قلب نامنظم، اسهال، و ترس اشاره نمود [۶]. افراد مبتلا به PTSD علاوه بر مشکلات فوق، دچار اختلالات متعددی مرتبط با حافظه نیز می‌باشند؛ به این ترتیب که نه تنها خاموشی حافظه ترومایی صورت نمی‌گیرد، بلکه با هر بار به‌خاطر آوری ترومایی، این حافظه تقویت و تشدید نیز می‌شود [۷]. استروژن‌ها گروهی از هورمون‌های جنسی زنانه هستند که در سیکل طبیعی تخمدان در مرحله فولیکولی از تخمک آزاد شده و در طی دوران بارداری، مقدار زیادی از این هورمون از جفت نیز ترشح می‌شود. استرادیول از موثرترین استروژن‌های طبیعی است [۸]. استروژن‌ها اثرات محیطی و مرکزی متعددی دارند و بر یادگیری و حافظه نیز موثرند. گزارش‌های زیادی مبنی بر اثرات استرادیول بر حافظه در انسان و حیوانات آزمایشگاهی وجود دارد [۱۰,۹]. عوامل مختلفی مانند برنامه زمانی و مقدار تجویز استروژن، سن، جنسیت و مدل‌های مختلف حافظه در متفاوت شدن اثرات استروژن بر یادگیری و حافظه دخیل می‌باشند. به عنوان مثال، به کار گیری حاد استروژن در دوز درمانی، یادگیری فضایی در ماز آبی موریس و حافظه احترازی را دچار اختلال می‌کند و در مقابل، به کار گیری مزمن استروژن در دوز درمانی نفایص موجود در حافظه فضایی را اصلاح می‌کند. هم‌چنین، مosh‌های صحرایی ماده در فازی از سیکل جنسی که دوز استرادیول بالا است، در مقایسه با مosh‌های نر، در ماز آبی موریس اجرای ضعیفتری را نشان می‌دهند [۱۱,۸]. برخی مطالعات نشان می‌دهد که استروژن درمانی حاد، یادگیری فضایی در ماز آبی موریس و حافظه احترازی را دچار اختلال می‌کند و در مقابل استروژن درمانی مزمن، نفایص موجود در حافظه فضایی را اصلاح می‌کند [۱۱,۹]. استرادیول بر خاموشی حافظه نیز موثر است. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که تزریق استرادیول در جوندگان، تثبیت حافظه خاموشی را از طریق فعالیت گیرنده بتا تسهیل می‌کند. استرادیول می‌تواند توانایی نگهداری خاموشی را خاموش شده را بهبود بخشد و به‌خاطر آوری خاموشی را افزایش می‌دهند. سطوح پایین استروژن با نقص در به‌خاطر آوری خاموشی ترس و سطوح بالای استروژن با افزایش به‌خاطر آوری خاموشی مرتبط است [۱۲,۱۱,۸]. نواحی مختلف مغزی در گیر در خاموشی حافظه مثل آمیگدال و قشر پره‌فرونتال و هیپوکمپ سطوح نسبتاً بالایی از گیرنده‌های استروژن را دارند، بنابراین استروژن با اثر-

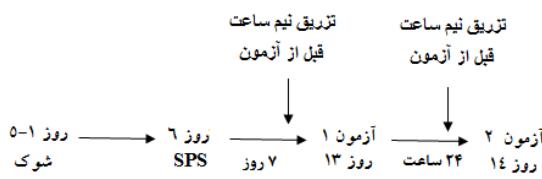
$P=0/001$] $F(3,32)=7/489$. میزان بی حرکتی در گروه تیمار شده با دوز $\mu\text{g}/\text{kg}$ ۱۸۰ استردادیول نسبت به گروه کنترل کاهش معنی داری داشت (به ترتیب در بخش های اول تا سوم $P<0/05$, $P<0/001$, $P<0/05$) (شکل شماره ۱). دوز $\mu\text{g}/\text{kg}$ ۱۸۰ استردادیول میزان بی حرکتی را به طور معنی داری نسبت به سایر دوز ها نیز کاهش داد (تست اول تا سوم به ترتیب $P<0/05$, $P<0/01$, $P<0/001$) (شکل شماره ۱).

نتایج تست دوم: تست دوم ۲۴ ساعت پس از تست اول انجام شد و همانند تست اول به ۳ بخش ۳ دقیقه ای تقسیم شد. این تست، به خاطر آوری و ثبت حافظه خاموشی را ارزیابی می کند. در هر ۳ بخش تست دوم نیز از نظر میزان بی حرکتی بین گروه های مختلف تفاوت معنی داری وجود داشت، به ترتیب برای بخش اول تا سوم $F(3,32)=5/455$, $P=0/004$, $F(3,32)=4/049$, $P=0/015$ و $F(3,32)=5/021$, $P=0/006$. در همه بخش ها میزان بی حرکتی در گروه تیمار شده با استردادیول سطح معنی داری عبارت است از: [۱۵, ۱۴]. استردادیول در سه دوز $\mu\text{g}/\text{kg}$ ۹۰, ۱۸۰ و ۳۶۰ (شکل شماره ۲). از طرف دیگر، تزریق استردادیول با دوز $\mu\text{g}/\text{kg}$ ۱۸۰ به طور معنی داری از گروه کنترل کمتر بود (سطح معنی داری بخش اول $P<0/05$ و بخش های دوم و سوم $P<0/01$) (شکل شماره ۲). به میزان معنی داری سبب کاهش میزان بی حرکتی در مقایسه با ۱۸۰ دوز ها، در هر ۳ بخش شد (تست اول تا سوم به ترتیب سایر دوز ها، در هر ۳ بخش شد (تست اول تا سوم به ترتیب $P<0/01$, $P<0/05$ و $P<0/001$) (شکل شماره ۲).

بحث

به منظور سنجش ابتلای به بیماری، یک هفته بعد از القا مدل، حیوانات به مدت ۹ دقیقه در دستگاه ترس شرطی شده قرار می گرفتند تا میزان بی حرکتی اندازه گیری شود. یکی از علائم مهم ابتلا به بیماری PTSD، بالا بودن میزان بی حرکتی (پاسخ ترس شرطی) است [۱۷, ۱۸]. میزان حدود ۹۰ درصدی بی حرکتی در حیوانات گروه کنترل در مطالعه حاضر، در راستای مطالعات PTSD گذشته، نشان دهنده قدرت القایی مدل در ایجاد بیماری است. همانطور که در مبحث مواد و روش ها گفته شد تزریق استردادیول به حیوانات مبتلا به PTSD، با ۳ دوز $\mu\text{g}/\text{kg}$ ۹۰ و ۳۶۰ نیم ساعت قبل از انجام تست ها صورت گرفت. در طول تست اول، خاموشی حافظه ترس شرطی به حیوانات آموخت داده شد؛ حیوانات در این مرحله، عدم ارتباط بین محرك شرطی (شارایط دستگاه ترس شرطی) و محرك غیر شرطی (شوک) را یاد می گیرند. فرایند خاموشی حافظه پس از یادگیری وارد مرحله ثبت می شود [۲۰, ۱۹].

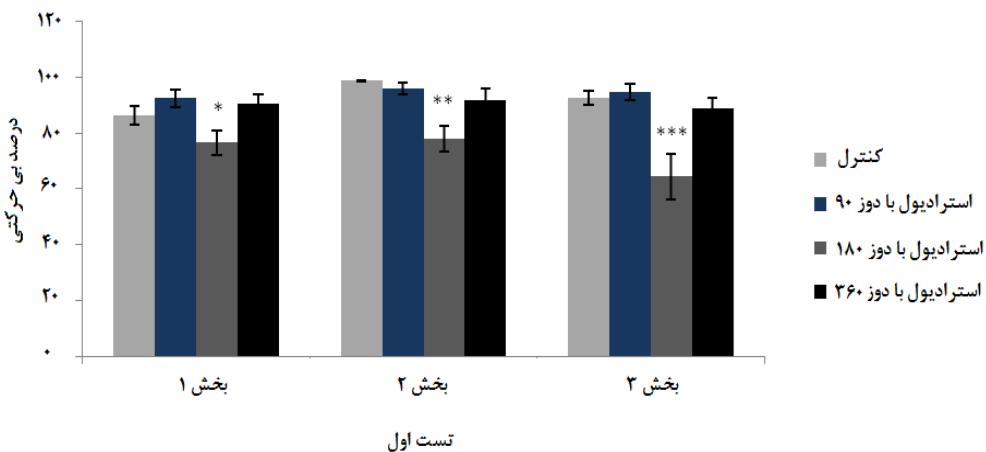
جهت ارزیابی حافظه ترس شرطی شده استفاده گردید. مراحل انجام آزمایش ها در طرح زیر خلاصه شده است.



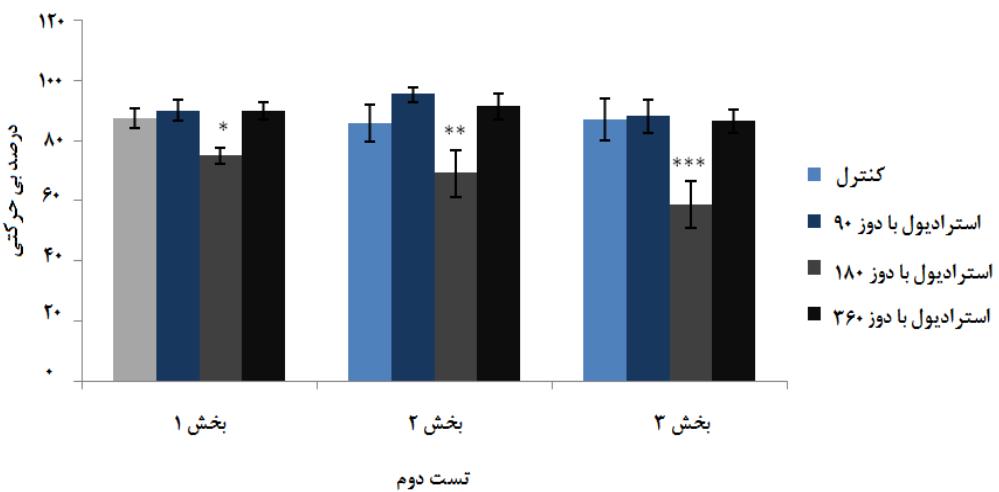
گروه های آزمایشی شامل ۳ گروه تیمار شده با دوز های مختلف استردادیول و یک گروه کنترل بود. مطابق طراحی بالا، تزریق استردادیول یا روغن کنجد به عنوان حلال اسال استردادیول (هر دو ساخت شرکت سیگما)، نیم ساعت قبل از تست های خاموشی انجام شد [۱۵, ۱۴]. استردادیول در سه دوز $\mu\text{g}/\text{kg}$ ۹۰, ۱۸۰ و ۳۶۰ به صورت زیر جلدی از ناحیه پشت گردن و توسط سرنگ همیلتون به حیوانات تزریق شد [۱۴-۱۶]. برای ارزیابی خاموشی حافظه ترس شرطی شده، حیوانات ۷ روز بعد از القا مدل، به مدت ۹ دقیقه بدون دریافت شوک الکتریکی در دستگاه ترس شرطی قرار گرفتند و پاسخ رفتاری حیوان در سه بازه زمانی ۳ دقیقه ای ثبت گردید. مهم ترین پاسخ رفتاری، میزان بی حرکتی (Freezing) است که عبارت از حذف کلیه اعمال حرکتی به جز تنفس می باشد. داده ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد ارائه شده است. آنالیز داده های آماری به کمک نرم افزار SPSS ویرایش ۱۶ انجام شد. و از آنالیز واریانس یک طرفه و پس آزمون تكميلي LSD برای تعیین تفاوت بين هر گروهها استفاده شد.

نتایج

یک هفته پس از القا بیماری PTSD، میزان بی حرکتی حیوانات توسط دستگاه ترس شرطی شده ارزیابی شد (تست اول) و یک روز بعد از تست اول، تست دوم صورت گرفت. هر یک از تست ها به ۳ بخش ۳ دقیقه ای تقسیم شد. حیوانات به طور تصادفی به ۴ گروه ۸ تا ۱۰ تایی تقسیم شدند، گروه های تیمار استردادیول را با ۳ دوز مختلف دریافت کرده و گروه کنترل روغن کنجد دریافت کرد. میزان بی حرکتی حیوانات با آنالیز واریانس یک طرفه مقایسه شدند و سطح معنی داری توسط آزمون تكميلي LSD بررسی شد. نتایج تست اول: این تست به منظور آموخت خاموشی حافظه انجام گرفت. آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که از نظر میزان بی حرکتی تفاوت معنی داری بین گروه ها، در هر ۳ بخش وجود داشت. مقادیر سطح معنی داری برای ۳ بخش به ترتیب عبارت است از: $F(3,32)=8/146$, $P=0/023$, $F(3,32)=3/625$, $P=0/001$.



شکل شماره ۱- مقایسه میزان بی‌حرکتی در گروه‌های مختلف آزمایشی در تست اول. استرادیول با دوز $180 \mu\text{g}/\text{kg}$ منجر به کاهش میزان بی‌حرکتی در هر ۳ بخش تست در مقایسه با گروه کنترل شد. میزان بی‌حرکتی در گروه تیمار شده با دوز $180 \mu\text{g}/\text{kg}$ نسبت به سایر تیمارها در هر ۳ بخش، کاهش معنی‌داری داشت. داده‌ها به صورت $\bar{X} \pm \text{SD}$ ارائه شده است.
 $* P < 0.05$, $** P < 0.01$, $*** P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل.



شکل شماره ۲- مقایسه میزان بی‌حرکتی در گروه‌های مختلف آزمایشی در تست دوم. استرادیول با دوز $180 \mu\text{g}/\text{kg}$ منجر به کاهش میزان بی‌حرکتی در هر ۳ بخش تست در مقایسه با گروه کنترل شد. میزان بی‌حرکتی در گروه تیمار شده با دوز $180 \mu\text{g}/\text{kg}$ نسبت به سایر تیمارها در هر ۳ بخش، کاهش معنی‌داری داشت. داده‌ها به صورت $\bar{X} \pm \text{SD}$ ارائه شده است.
 $* P < 0.05$, $** P < 0.01$, $*** P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل.

گردید؛ این اثری بود که از مشاهده تداوم کاهش میزان بی‌حرکتی در بخش‌های دوم و سوم تست اول، در مقایسه با گروه کنترل به دست آمد. تحت تاثیر استرادیول حافظه ترس شرطی شده به شدت تشکیل و ثبیت می‌گردد. گزارشات متعددی در مطالعه روى نمونه‌های حیوانی وجود دارد که نشان می‌دهند تفاوت‌های جنسیتی بر یادگیری و حافظه در انواع مدل‌های رفتاری، به اشکال متفاوتی موثر است [۱۸، ۲۰]. گزارش شده است که هورمون‌های جنسی اکتساب ترس شرطی را تحت تاثیر قرار می‌دهند، اما این

مقایسه میزان بی‌حرکتی بین گروه‌های آزمایشی در تست اول نشان داد که در حیوانات دچار PTSD، استرادیول با دوز $180 \mu\text{g}/\text{kg}$ مقدار بی‌حرکتی را نسبت به گروه کنترل کاهش می‌دهد. کاهش پاسخ ترس شرطی شده نشان دهنده تقویت فرایند خاموشی حافظه ترس است؛ بدین معنی که استرادیول با این دوز روند یادگیری خاموشی حافظه ترس شرطی را بهبود بخشیده است. استرادیول با دوز $180 \mu\text{g}/\text{kg}$ بر ثبیت خاموشی حافظه نیز اثر تقویتی داشت و منجر به ثبیت قوی تر خاموشی حافظه در حیوانات دچار PTSD

ثبت و بهاطر آوری خاموشی وجود ندارد. در این مطالعه نحوه عملکرد استراديول بر مراحل خاموشی حافظه بررسی نگردید. استراديول اثرات گسترهای بر روی سیستم عصبی دارد، از جمله عملکرد محافظت نوروپنی، کاهش مرگ سلولی ناشی از آپوپتوز، و تاثیر بر فاکتورهای رشد عصبی به خصوص BDNF [۲۹-۳۱]. با توجه به نقش موثر BDNF در خاموشی حافظه، احتمال می‌رود که اثرات گزارش شده استراديول در این تحقیق بدليل تاثیر آن بر مقدار پروتئین BDNF باشد [۳۰، ۲۹]. استروژن اثرات عمیقی روی ساختار و عملکرد هیپوکامپ به عنوان ساختار اصلی درگیر در حافظه ترس شرطی شده دارد. این اثرات به طور عمده از طریق گیرنده‌های هسته‌ای استروژن میانجی‌گری می‌شوند، این گیرنده‌ها با اجزاء کروماتین برهمکنش داده و رونویسی از ژن‌های هدف استروژن را تنظیم می‌کنند.علاوه بر این، استروژن ممکن است با اثر بر روی پروتئین‌های غشایی که مشابه گیرنده‌های استروژنی هستند برهمکنش دهد. به نظر می‌رسد برخی از گیرنده‌های غشایی در هیپوکامپ وجود دارد و می‌تواند در اثرات ژنومیک استراديول روی عملکرد هیپوکامپ درگیر باشد [۳۳، ۳۲].

نتیجه‌گیری

یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که استراديول بر مراحل مختلف خاموشی حافظه ترس شرطی شده ناشی از القا بیماری PTSD موثر است. بدین ترتیب که، استراديول به صورت واپسی به دوز بر اکتساب، بهاطر آوری و ثبت خاموشی حافظه ترس شرطی شده در حیوانات دچار PTSD موثر است. و هم‌چنین، تزریق زیر جلدی استراديول با دوز $\mu\text{g/kg}$ ۱۸۰، منجر به تقویت هر ۳ مرحله اکتساب، بهاطر آوری و ثبت خاموشی حافظه ترس شرطی شده می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از پایان نامه خانم فاطمه عامریان برای اخذ درجه کارشناسی ارشد زیست شناسی (فیزیولوژی) از دانشگاه دامغان است. بدین‌وسیله از دانشکده زیست شناسی دانشگاه دامغان بهاطر پرداخت هزینه مواد و وسایل و دراختیار گذاشتن امکانات آزمایشگاهی تشکر و قدر دانی می‌گردد.

References:

- [1] Alberini CM. Mechanisms of memory stabilization: are consolidation and reconsolidation similar or distinct processes? *Trends Neurosci* 2005; 28(1): 51-6.

گزارش‌ها در زمینه اثرات استراديول بر اکتساب حافظه ضد و نقیض می‌باشند. اغلب شواهد حاکی از اثر افزاینده استراديول بر یادگیری حافظه است [۲۳، ۲۲]. اما تعداد کمی از سایر مطالعات مبنی بر اثر کاهنده استراديول یا بی‌اثر بودن آن است [۲۵، ۲۴]. اثرات استراديول واپسی به دوز، مدل حیوانی یادگیری و جنسیت حیوان، متفاوت است. گزارشی مبنی بر اثرات استراديول بر یادگیری فرایند خاموشی حافظه در بیماری PTSD وجود ندارد. در این مطالعه مشخص شد که اثرات استراديول بر اکتساب و ثبت حافظه در حیوانات دچار PTSD، واپسی به دوز است. دوزهای پایین ($\mu\text{g/kg}$) و بالا ($\mu\text{g/kg}$) ۳۶۰ بی‌اثر بوده و دوز متوسط، موثر بود. تست دوم خاموشی حافظه ۲۴ ساعت بعد از تست اول انجام شد. در ۳ دقیقه اول قرارگیری حیوان در قفس، حافظه خاموشی بهاطر آورده می‌شود و سپس این حافظه فعال شده دست‌خوش ثبت مجدد می‌گردد. استراديول با دوز $\mu\text{g/kg}$ ۱۸۰ منجر به کاهش مقدار بی‌حرکتی در هر ۳ بخش تست دوم در حیوانات دچار PTSD، در مقایسه با گروه کنترل شد. این مشاهده نشان‌دهنده اثر تقویتی استراديول بر بهاطر آوری و ثبت مجدد حافظه خاموشی در حیوانات دچار PTSD است. گزارش دیگران نشان می‌دهد که غلظت خونی استراديول در زمان یادگیری خاموشی، بر قدرت بهاطر آوری حافظه موثر است. به این ترتیب که بهاطر آوری حافظه در موش‌های ماده‌ای که یادگیری خاموشی در فاز کمبود استراديول سیکل جنسی آن‌ها انجام شده، ضعیف‌تر از موش‌های ماده‌ای است که این یادگیری در دوره دارای استراديول بالا انجام شده است [۲۷، ۲۶]. از طرف دیگر نوسانات استراديول بر ثبت خاموشی نیز موثر است. گزارش شده است که موش‌های صحرایی ماده‌ای که تحت تیمار با آگونیست‌های استروژن قرار گرفته‌اند ثبت حافظه خاموشی در آن‌ها تقویت شده و بالعکس آنتاگونیست‌های استروژن منجر به تخریب ثبت حافظه خاموشی گشته است [۲۸، ۱۶]. یافته‌های این تحقیق نشان داد که اثرات استراديول بر بهاطر آوری و ثبت مجدد خاموشی نیز واپسی به دوز است؛ بهنحوی که دوزهای بالا و پایین بی‌تأثیر بوده و دوز متوسط، موثر بود. اثرات واپسی به دوز استراديول بر بهاطر آوری حافظه در مطالعات دیگران نیز گزارش شده است [۲۸، ۱۶]. شواهدی مبنی بر مکانیسم مداخله استراديول بر اکتساب،

- [2] Klein SB, Robertson TE, Delton AW. Facing the future: memory as an evolved system for planning future acts. *Mem Cognit* 2010; 38(1): 13-22.

- [3] Sotres-Bayon F, Cain CK, LeDoux JE. Brain mechanisms of fear extinction: historical perspectives on the contribution of prefrontal cortex. *Biol Psychiatry* 2006; 60(4): 329-36.
- [4] Sacchetti C, Baratono S, Negro F, Bessone A, Cussino P, Cerutti F. [Blood coagulation parameters in insulin-dependent diabetic children at onset of the disease and after 3 months]. *Minerva Endocrinol* 1989; 14(2): 115-8.
- [5] Herry C, Ferraguti F, Singewald N, Letzkus JJ, Ehrlich I, Luthi A. Neuronal circuits of fear extinction. *Eur J Neurosci* 2010; 31(4): 599-612.
- [6] Cukor J, Spitalnick J, Difede J, Rizzo A, Rothbaum BO. Emerging treatments for PTSD. *Clin Psychol Rev* 2009; 29(8): 715-26.
- [7] Moeller-Bertram T, Keltner J, Strigo IA. Pain and post traumatic stress disorder - review of clinical and experimental evidence. *Neuropharmacology* 2012; 62(2): 586-97.
- [8] Glover EM, Jovanovic T, Mercer KB, Kerley K, Bradley B, Ressler KJ, et al. Estrogen levels are associated with extinction deficits in women with posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry* 2012; 72(1): 19-24.
- [9] Zeidan MA, Igoe SA, Linnman C, Vitalo A, Levine JB, Klibanski A, et al. Estradiol modulates medial prefrontal cortex and amygdala activity during fear extinction in women and female rats. *Biol Psychiatry* 2011; 70(10): 920-7.
- [10] Walf AA, Frye CA. A review and update of mechanisms of estrogen in the hippocampus and amygdala for anxiety and depression behavior. *Neuropsychopharmacology* 2006; 31(6): 1097-11.
- [11] McClure RE, Barha CK, Galea LA. 17 β -Estradiol, but not estrone, increases the survival and activation of new neurons in the hippocampus in response to spatial memory in adult female rats. *Horm Behav* 2013; 63(1): 144-57.
- [12] Inagaki T, Gautreaux C, Luine V. Acute estrogen treatment facilitates recognition memory consolidation and alters monoamine levels in memory-related brain areas. *Horm Behav* 2010; 58(3): 415-26.
- [13] Wang H, Zuo D, He B, Qiao F, Zhao M, Wu Y. Conditioned fear stress combined with single-prolonged stress: a new PTSD mouse model. *Neurosci Res* 2012; 73(2): 142-52.
- [14] Sales S, Ureshino RP, Pereira RT, Luna MS, Pires de Oliveira M, Yamanouye N, et al. Effects of 17beta-estradiol replacement on the apoptotic effects caused by ovariectomy in the rat hippocampus. *Life Sci* 2010; 86(21-22): 832-8.
- [15] Viau V, Meaney MJ. Variations in the hypothalamic-pituitary-adrenal response to stress during the estrous cycle in the rat. *Endocrinology* 1991; 129(5): 2503-11.
- [16] Chang YJ, Yang CH, Liang YC, Yeh CM, Huang CC, Hsu KS. Estrogen modulates sexually dimorphic contextual fear extinction in rats through estrogen receptor beta. *Hippocampus* 2009; 19(11): 1142-50.
- [17] Siegmund A, Wotjak CT. Toward an animal model of posttraumatic stress disorder. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1071: 324-34.
- [18] Aguilar R, Gil L, Gray JA, Driscoll P, Flint J, Dawson GR, et al. Fearfulness and sex in F2 Roman rats: males display more fear though both sexes share the same fearfulness traits. *Physiol Behav* 2003; 78(4): 723-32.
- [19] Quirk GJ, Mueller D. Neural mechanisms of extinction learning and retrieval. *NeuroPsychopharmacology* 2008; 33(1): 56-72.
- [20] Lang S, Kroll A, Lipinski SJ, Wessa M, Ridder S, Christmann C, et al. Context conditioning and extinction in humans: differential contribution of the hippocampus, amygdala and prefrontal cortex. *Eur J Neurosci* 2009; 29(4): 823-32.
- [21] Jasnow AM, Schulkin J, Pfaff DW. Estrogen facilitates fear conditioning and increases corticotropin-releasing hormone mRNA expression in the central amygdala in female mice. *Horm Behav* 2006; 49(2): 197-205.
- [22] Pearson R, Lewis MB. Fear recognition across the menstrual cycle. *Horm Behav* 2005; 47(3): 267-71.
- [23] Leuner B, Mendolia-Loffredo S, Shors TJ. High levels of estrogen enhance associative memory formation in ovariectomized females. *Psychoneuroendocrinology* 2004; 29(7): 883-90.
- [24] Gupta RR, Sen S, Diepenhorst LL, Rudick CN, Maren S. Estrogen modulates sexually dimorphic contextual fear conditioning and hippocampal long-term potentiation (LTP) in rats(1). *Brain Res* 2001; 888(2): 356-65.
- [25] Milad MR, Zeidan MA, Contero A, Pitman RK, Klibanski A, Rauch SL, et al. The influence of gonadal hormones on conditioned fear extinction in healthy humans. *Neuroscience* 2010; 168(3): 652-8.
- [26] Graham BM, Milad MR. Blockade of estrogen by hormonal contraceptives impairs fear extinction in female rats and women. *Biol Psychiatry* 2013; 73(4): 371-8.
- [27] Rey CD, Lipps J, Shansky RM. Dopamine D1 receptor activation rescues extinction impairments in low-estrogen female rats and induces cortical layer-specific activation changes in prefrontal-amygdala circuits. *NeuroPsychopharmacology* 2014; 39(5): 1282-9.
- [28] Milad MR, Igoe SA, Lebron-Milad K, Novales JE. Estrous cycle phase and gonadal hormones influence conditioned fear extinction. *Neuroscience* 2009; 164(3): 887-95.
- [29] Scharfman HE, Maclusky NJ. Similarities between actions of estrogen and BDNF in the hippocampus: coincidence or clue? *Trends Neurosci* 2005; 28(2): 79-85.
- [30] Inagaki T, Kaneko N, Zukin RS, Castillo PE, Etgen AM. Estradiol attenuates ischemia-induced death of hippocampal neurons and enhances

synaptic transmission in aged, long-term hormone-deprived female rats. *PloS One* 2012; 7(6): e38018.
[31] Solum DT, Handa RJ. Estrogen regulates the development of brain-derived neurotrophic factor mRNA and protein in the rat hippocampus. *J Neurosci* 2002; 22(7): 2650-9.
[32] Cavus I, Duman RS. Influence of estradiol,

stress, and 5-HT2A agonist treatment on brain-derived neurotrophic factor expression in female rats. *Biol Psychiatry* 2003; 54(1): 59-69.

[33] Murphy DD, Cole NB, Greenberger V, Segal M. Estradiol increases dendritic spine density by reducing GABA neurotransmission in hippocampal neurons. *J Neurosci* 1998; 18(7): 2550-9.