

The Effects of Testosterone on Cognitive Function Impairments and Brain Edema Induced by Methamphetamine in Gonadectomized Rats

Tahoora Mousavi¹
 Leila Ahmadi²
 Hamed Ghazvini^{3,4}
 Seyedeh Masoumeh Seyedhosseini Tamijani³
 Raheleh Rafeiee³
 Javad Akhtari⁵
 Ali Talebi^{6,7}
 Mehdi Khodamoradi⁸
 Saba Niknamfar⁹

¹ Assistant Professor, Molecular and Cell Biology Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Medical Student, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ Assistant Professor, Department of Neuroscience, Faculty of Advanced Technologies in Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁴ Psychiatry and Behavioral Sciences Research Center, Addiction Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari

⁵ Associate Professor, Department of Medical Nanotechnology, Faculty of Advanced Technologies in Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁶ Sexual Health and Fertility Research Center, Shahrood University of Medical Sciences, Shahrood, Iran

⁷ Assistance Professor, Department of Basic Sciences, School of Medicine, Shahrood University of Medical Sciences, Shahrood, Iran

⁸ Assistant Professor, Substance Abuse Prevention Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

⁹ PhD Student in Neuroscience, Faculty of Advanced Technologies in Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received October 29, 2023; Accepted April 4, 2024)

Abstract

Background and purpose: Methamphetamine is one of the stimulant drugs that leads to the occurrence of cognitive and behavioral dysfunctions. Among the disorders that occur after methamphetamine abuse are learning and memory disorders as well as social interactions and anxiety. On the other hand, the function of sex steroids in the development of brain regions involved in reproduction has been the subject of extensive research over the years. In this context, testosterone plays an important role in neuronal and glial organization in prenatal and postnatal periods. Recent studies showed the effect of sex hormones on the nervous system and highlight the brain as a main target tissue for androgens. On the other hand, studies have shown that testosterone has neuroprotective effects against cognitive and behavioral disorders. Clinical manifestations of testosterone-related brain changes include cognitive impairments such as reduced memory efficiency related to the frontal cortex, as well as reduced long-term memory related to the hippocampus and other temporal regions of the midbrain. Androgens, especially testosterone, play an important role in memory function whereby the decrease and absence of testosterone leads to cognitive impairment and also neurodegenerative conditions such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and Huntington's disease. Therefore, in this study, the role of testosterone hormone in social memory, novel object recognition memory, as well as anxiety-like behavior and brain edema induced by a neurotoxic regimen of methamphetamine were investigated.

Materials and methods: This study was conducted on 48 gonadectomized rats in 6 groups including control groups, methamphetamine (6mg/kg), solvent (sesame oil), methamphetamine + testosterone (0.25mg /kg), methamphetamine + testosterone (0.5 mg/kg) and methamphetamine + testosterone (1 mg/kg) were performed. At first, mice were anesthetized and gonadectomy surgery was performed. After 2 weeks of recovery, the evaluation of social memory was done using the three-chamber social interaction test, and anxiety-like behavior index using the open field test. Finally, the animals were killed and the brain tissue was evaluated for brain edema.

Results: The findings of the study showed that social memory was significantly impaired in rats that received methamphetamine compared to the control group ($P < 0.001$). On the other hand, results showed that there was a significant increase in anxiety-like behaviors as well as brain edema in rats that received methamphetamine ($P < 0.001$). Statistical analysis also showed that the administration of testosterone hormone was able to improve cognitive functions and reduce anxiety-like behaviors and brain edema caused by methamphetamine ($P < 0.05$).

Conclusion: Overall, the present study suggests that the male sex hormone testosterone can be effective in improving behavioral disorders and anxiety, as well as brain edema caused by the administration of methamphetamine. Further research is needed to investigate the cellular and molecular mechanisms of the effects of this hormone.

Keywords: methamphetamine, testosterone, anxiety, brain edema, social memory, novel object memory

J Mazandaran Univ Med Sci 2024; 34 (232): 12-24 (Persian).

Corresponding Author: Hamed Ghazvini - Faculty of Advanced Technologies in Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. (E-mail: hghazvini1@gmail.com)

تأثیر هورمون تستوسترون بر اختلالات عملکردهای شناختی و ادم مغزی ناشی از مت آمفتامین در موش های گنادکتومی

طه‌ورا موسوی^۱

لیلا احمدی^۲

حامد قزوینی^{۳و۴}

سیده معصومه سید حسینی تمینجانی^۳

راحله رفائی^۳

جواد اختری^۵

علی طالبی^{۶و۷}

مهدی خدامرادی^۸

صبا نیکنام فر^۹

چکیده

سابقه و هدف: مت آمفتامین یکی از داروهای محرک است که منجر به بروز اختلال عملکردهای شناختی و رفتاری می‌گردد. از جمله اختلالاتی که به دنبال سوء مصرف مت آمفتامین به وجود می‌آید اختلالات یادگیری و حافظه و همچنین تعاملات اجتماعی و بروز اضطراب می‌باشد. از طرف دیگر، عملکرد استروئیدهای جنسی در توسعه مناطق مغز دخیل در تولید مثل موضوع تحقیقات گسترده در طول سال‌ها بوده است. در همین زمینه تستوسترون نقش مهمی در سازماندهی نورونی و گلیال در دوره‌های قبل از تولد و پس از تولد دارد. تحقیقات اخیر تأثیر هورمون‌های جنسی بر سیستم عصبی را بررسی کرده است و مغز را به عنوان یک بافت هدف اصلی برای آندروژن‌ها برجسته می‌کند. از طرف دیگر مطالعات نشان داده است که تستوسترون دارای اثرات محافظت نورونی در برابر اختلالات شناختی و رفتاری نیز هستند. تظاهرات بالینی تغییرات مغزی مرتبط با تستوسترون شامل اختلالات شناختی مانند کاهش کارایی حافظه در ارتباط با قشر پیشانی، و همچنین کاهش حافظه بلندمدت مرتبط با هیپوکامپ و سایر مناطق زمانی مغز میانی است. آندروژن‌ها، به ویژه تستوسترون، نقش مهمی در عملکرد حافظه ایفا کرده‌اند، به موجب آن کاهش و عدم وجود تستوسترون منجر به نقص شناختی و افزایش شرایط نورودژنراتیو و ترومای مغزی مانند بیماری آلزایمر، پارکینسون و هانتینگتون می‌شود. این مطالعه با هدف بررسی، نقش هورمون تستوسترون در حافظه اجتماعی و همچنین شبه اضطرابی و بروز ادم مغزی ناشی از مصرف دوز توکسیک مت آمفتامین، انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی، بر روی تعداد ۴۸ راس موش صحرایی گنادکتومی شده در ۶ گروه شامل گروه‌های کنترل، مت آمفتامین (۶mg/kg)، حلال (روغن کنجد)، مت آمفتامین + تستوسترون (۲۵ mg/kg)، مت آمفتامین + تستوسترون (۵ mg/kg) و مت آمفتامین + تستوسترون (۱ mg/kg) انجام شد. در ابتدا موش‌های بیهوش گردید و جراحی برای گنادکتومی نمودن حیوان صورت گرفت. پس از گذشت ۲ هفته جهت ریکاوری موش‌های گنادکتومی شده، ارزیابی حافظه اجتماعی با استفاده از تست تعامل اجتماعی سه اتاقک و شاخص رفتارهای شبه اضطرابی با استفاده از تست میدان باز انجام شد در نهایت، حیوانات کشته شده و بافت مغز جهت ارزیابی ادم مغزی مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها: یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که حافظه اجتماعی در موش‌هایی که مت آمفتامین دریافت کرده بودند در مقایسه با موش‌های گروه کنترل اختلال معنی‌داری داشتند ($P < 0/001$). از طرف دیگر یافته‌های این تحقیق نشان داد که رفتارهای شبه اضطرابی و همچنین ادم مغزی در موش‌هایی که مت آمفتامین دریافت کرده بودند، افزایش معنی‌داری داشت ($P < 0/001$). آنالیز آماری هم‌چنین نشان داد که تجویز هورمون تستوسترون توانست تا حدودی باعث بهبود عملکردهای شناختی و کاهش رفتارهای شبه اضطرابی و ادم مغزی ناشی از مت آمفتامین شود ($P < 0/05$).

استنتاج: بر اساس مطالعه حاضر، هورمون جنسی مردانه تستوسترون می‌تواند در بهبود اختلالات رفتاری و اضطراب و هم‌چنین ادم مغزی ناشی از تجویز مت آمفتامین موثر می‌باشد و تحقیقات بیش‌تری برای بررسی مکانیسم‌های سلولی و مولکولی بروز اثرات این هورمون مورد نیاز است.

واژه‌های کلیدی: مت آمفتامین، تستوسترون، اضطراب، ادم مغزی، حافظه اجتماعی، حافظه تشخیص شی جدید

E-mail: hghazvini1@gmail.com

مؤلف مسئول: حامد قزوینی - ساری: دانشگاه علوم پزشکی مازندران، دانشکده فناوری‌های نوین پزشکی

۱. استادیار، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی مولکولی، پژوهشکده هموگلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳. استادیار، گروه علوم اعصاب، دانشکده فناوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۴. مرکز تحقیقات روان‌پزشکی و علوم رفتاری، پژوهشکده اعتیاد، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۵. دانشیار، گروه نانو فناوری پزشکی، دانشکده فناوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۶. مرکز تحقیقات سلامت جنسی و باروری، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران

۷. استادیار، گروه علوم پایه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران

۸. استادیار، مرکز تحقیقات پیشگیری از سوء مصرف مواد، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۹. دانشجوی دکتری علوم اعصاب، دانشکده فناوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

© تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۸/۷ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۲/۱۱/۸ تاریخ تصویب: ۱۴۰۳/۱/۱۸

مقدمه

مطالعات نشان می‌دهد که مت آمفتامین یکی از داروهایی است که به عنوان محرک مورد استفاده قرار می‌گیرد که از دسته آمفتامین‌ها محسوب می‌گردد. در طی سال‌های اخیر به صورت فزاینده‌ای مورد سوء مصرف قرار گرفته و در مجموع در کل دنیا میزان سوء مصرف مت آمفتامین‌ها بیش از ۳۰ میلیون نفر بوده است به طوری که فقط در ایالات متحده بیش از ۲/۵ میلیون نفر سابقه سوء مصرف مت آمفتامین را در سال ۲۰۱۴ داشته‌اند. از طرف دیگر برخلاف مواد مخدر سنتی که از مرزهای جغرافیایی وارد می‌شود، در خود کشورها به صورت صنعتی تولید می‌شود و لذا خطر اعتیاد به این مواد بسیار بیش‌تر است (۱-۳). از طرف دیگر مصرف مت آمفتامین منجر به بروز رفتارهای تکانشی و همچنین پاداشی می‌شوند که متعاقب تداوم مصرف آن‌ها باعث بروز حساسیت، وابستگی و رفتارهای جستجوگرانه و همچنین اختلالات گسترده در سیستم عصبی مرکزی می‌شود (۴). تحقیقات نشان می‌دهد که در مصرف مزمن یا مصرف دوز بالای مت آمفتامین‌ها پیامدهای مختلفی نظیر آسیب به سیستم نوروترانسمیتری نظیر سیستم‌های گلو تاما ترژیک و دوپامینرژیک می‌شود. این آسیب‌ها در نواحی مختلف نظیر هیپوکامپ، امیگدال و همچنین قشر پره فرونتال به صورت بیش‌تری رخ داده و نهایتاً باعث عوارض متعددی چون بروز اختلالات شناختی از جمله حافظه و یادگیری و بروز رفتارهای اضطرابی و همچنین سایکوز، می‌شود (۵-۷). از طرف دیگر هورمون‌های جنسی، فراتر از نقش بسیار مهم شان در فرایندهای تولید مثلی، دارای اثرات محافظت نورونی می‌باشند (۸). آندروژن‌ها به‌ویژه تستوسترون در ارتباط با تشخیص و حافظه به شکل خاصی عمل می‌کنند، به طوری که کاهش و حذف تستوسترون باعث اختلالات حافظه و ایجاد بیماری‌های عصبی و آسیب‌های مغزی مانند بیماری آلزایمر، بیماری پارکینسون و بیماری هانتینگتون می‌شود (۹-۱۱). سطح تستوسترون در مغز در افراد مبتلا به بیماری آلزایمر به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد که

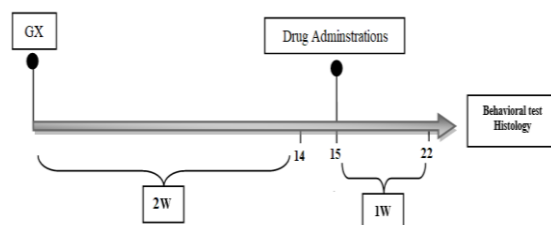
نشانه‌ای از ابتلا به بیماری آلزایمر است (۹). در مغز، گیرنده‌های آندروژن توسط سلول‌های عصبی و گلیا بیان می‌شوند و عمدتاً در تالاموس، هیپوتالاموس، هیپوکامپ، امیگدال و قشر مغز قرار دارند (۱۲). غلظت بالایی از گیرنده‌های آندروژن در مراکز اصلی یادگیری و حافظه در مغز مانند هیپوکامپ وجود دارد که ممکن است نشان‌دهنده ارتباط بین گیرنده‌های آندروژن و عملکردهای شناختی در مغز باشد (۱۳). انتقال خانواده گسترده به هسته‌ای و به تبع از آن کاهش زاد و ولد می‌باشد (۱). در گذار به سوی مدرنیته، علل و عوامل فردی، فرهنگی و اجتماعی و حتی سیاست‌های بین‌المللی، این روند را تغییر داده است؛ به گونه‌ای که امروز کاهش فرزندآوری در بسیاری از کشورها، به عنوان یک چالش اجتماعی قلمداد می‌شود. پیش‌بینی می‌شود تا سال ۲۰۵۰، جمعیت افراد بالای ۶۰ سال که ۸۰ درصد آن‌ها در کشورهای در حال توسعه زندگی می‌کنند به بیش از دو میلیارد نفر برسد و اهمیت این موضوع تا حدی است که از سالمندی به عنوان یک فوریت جهانی یاد می‌شود (۲، ۳).

مطالعات زیادی حاکی از نقش هورمون تستوسترون در عملکردهای شناختی نظیر بهبود حافظه و یادگیری و همچنین حافظه اجتماعی و کاهش رفتارهای شبه اضطرابی در طبق وسیعی از بیماری‌ها است (۱۴-۱۷). در هر صورت در خصوص اهمیت نقش هورمون‌های جنسی دنال مصرف کرونیک دوز سمی مت آمفتامین مطالعات محدودی صورت پذیرفته است. در همین زمینه اخیراً قزوینی و همکاران نشان داده‌اند که تزریق طولانی مدت هورمون‌های جنسی زنانه نظیر استروژن و پروژسترون باعث بهبود عملکرد حافظه و یادگیری، کاهش التهاب و مرگ نورونی به دنبال تزریق مت آمفتامین در موش صحرایی می‌شود (۱۸). از طرف دیگر با توجه به اهمیت آندروژن‌ها و به خصوص تستوسترون در عملکردهای شناختی و تفاوت جنسیتی در بروز اختلالات شناختی بدنال سوم مصرف مت آمفتامین‌ها مطالعه‌ای در خصوص اثرات تستوسترون بر اختلالات حافظه و رفتارهای شبه اضطرابی به دنبال تجویز

مت آمفتامین صورت نگرفته است. لذا در این مطالعه اثرات تجویز تستوسترون بر عملکرد شناختی نظیر حافظه تشخیص شی جدید و حافظه اجتماعی و همچنین رفتارهای شبه اضطرابی بدنبال صرف دوز توکسیک مت آمفتامین در مدل موش صحرایی گنادکتومی شده مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی، با کد اخلاق IR.MAZUMS.4.REC.1401.14748 از ۴۸ راس موش‌های صحرایی سفید بالغ نژاد ویستار، در محدوده وزنی ۲۰۰-۲۵۰ گرم تهیه شده از انیستوی حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی مازندران استفاده شد. حیوانات به تعداد ۴ راس در قفس‌های مخصوص نگهداری می‌شدند و دسترسی آزادانه به آب و غذا داشتند. دمای حیوان خانه به‌طور ثابت در محدوده 23 ± 1 و دوره‌های روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعته حفظ شد. برای این مطالعه از ۶ گروه از موش‌های صحرایی بالغ نر گنادکتومی شده برای آزمایش‌های رفتاری مورد استفاده قرار گرفت. حیوانات به‌طور تصادفی به ۶ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. روش اجرای آزمایش در شمای کلی در تصویر شماره ۱ نمایش داده شده است.



تصویر شماره ۱: زمان بندی کلی مطالعه

۱- گروه کنترل، در این گروه دو هفته پس از گنادکتومی، حیوانات سالیان دریافت کردند. رفتارهای اضطرابی با Open field و همچنین تست تشخیص شی

جدید با استفاده از Novel object recognition و حافظه اجتماعی با Social interaction test انجام شد. سپس حیوانات تحت گاز CO₂ کشته و سپس مغز آن‌ها خارج و مورد مطالعه ادم مغزی قرار گرفت.

۲- گروه مت آمفتامین، در این گروه دو هفته پس از گنادکتومی، حیوانات مت آمفتامین (6mg/kg) به‌صورت چهار بار تزریق با فاصله زمانی ۲ ساعت به‌صورت درون صفاقی دریافت کردند (۱۹). سپس، تست‌های رفتاری و ادم مغزی همانند گروه کنترل انجام شد.

۳- گروه مت آمفتامین + حلال، در این گروه دو هفته پس از گنادکتومی، حیوانات مت آمفتامین (6mg/kg) به‌صورت چهار بار تزریق با فاصله زمانی ۲ ساعت به‌صورت درون صفاقی دریافت کردند و نیم ساعت پس از آن حلال تستوسترون (روغن کنجد) دریافت کردند. سپس، تست‌های رفتاری و ادم مغزی همانند گروه کنترل انجام شد.

۴- گروه مت آمفتامین + تستوسترون دوز ۱، در این گروه دو هفته پس از گنادکتومی، حیوانات مت آمفتامین (6mg/kg) به‌صورت چهار بار تزریق با فاصله زمانی ۲ ساعت به‌صورت درون صفاقی دریافت کردند و نیم ساعت پس از آن تستوسترون (۰/۲۵ mg/kg) دریافت کردند. سپس، تست‌های رفتاری و ادم مغزی همانند گروه کنترل انجام شد.

۵- گروه مت آمفتامین + تستوسترون دوز ۲، در این گروه دو هفته پس از گنادکتومی، حیوانات مت آمفتامین (6mg/kg) به‌صورت چهار بار تزریق با فاصله زمانی ۲ ساعت به‌صورت درون صفاقی دریافت کردند و نیم ساعت پس از آن تستوسترون (۰/۵ mg/kg) دریافت کردند. سپس، تست‌های رفتاری و ادم مغزی همانند گروه کنترل انجام شد.

۶- گروه مت آمفتامین + تستوسترون دوز ۳، در این گروه دو هفته پس از گنادکتومی، حیوانات مت آمفتامین (6mg/kg) به‌صورت چهار بار تزریق با فاصله زمانی ۲ ساعت به‌صورت درون صفاقی دریافت کردند و نیم

ساعت پس از آن تستوسترون (1 mg/kg) دریافت کردند. سپس، تست‌های رفتاری و ادم مغزی همانند گروه کنترل انجام شد.

گنادکتومی

برای حذف اثرات هورمون جنسی گنادکتومی یا برداشتن بیضه‌ها در موش‌های نر صورت گرفت. در ابتدا پس از بیهوش کردن حیوان از طریق تزریق داخل صفاقی مخلوط کتامین (100 mg/kg) و زایلازین (10 mg/kg)، موهای کیسه بیضه تراشیده شده و پوست ناحیه اسکروتوم برش داده شد. بعد از آن پس از آن که بیضه‌ها نمایان گردید، از انتهای طناب اسپرماتیک با نخ بخیه به عنوان لیگاتور، بسته و قطع شدند. سپس محل جراحی تمیز شده و پوست برش داده شده بخیه زده شد و دو هفته جهت ریکاوری به حیوان استراحت داده شد (۲۰).

آزمون تعامل اجتماعی (Social interaction test)

این آزمون در یک جعبه با ابعاد $59 \times 39/5 \times 21/5$ سانتی متر انجام شد که به سه اتاق با اندازه مساوی ($18/5 \times 39 \times 39/5$ سانتی متر) تقسیم می‌شود که می‌تواند توسط یک درب کشویی بسته شود. هر دو اتاق کناری حاوی یک سیلندر است. سیلندر با درب چوبی بسته شده است. در پایان کار ۲۰ دقیقه ای، همه موش‌ها به قفس خانه خود بازگردانده شد. دستگاه با آب و الکل ۷۰ درصد تمیز و خشک شد. حرکات موش‌ها با استفاده از دوربینی در بالای دستگاه ضبط و در نهایت با استفاده از نرم‌افزار Dori مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. روش آزمایشی شامل سه مرحله متوالی است. مرحله عادت (۵ دقیقه) که موش صحرایی در اتاق میانی قرار می‌گیرد، درهای کشویی باز می‌شوند و به موش اجازه داده می‌شود تا هر سه اتاق را کاوش کند. دو اتاق کناری حاوی یک سیلندر خالی است. سیلندر خالی یک شی جدید بی‌جان جدید و بدون ارزش اجتماعی را

ارائه می‌دهد. فعالیت عمومی، اولویت احتمالی برای قسمت خاصی از دستگاه (وسط یا یکی از اتاق‌های کناری) و اکتشاف سیلندر اندازه‌گیری می‌شود. مرحله جامعه‌پذیری (۱۰ دقیقه)، پس از دوره عادت، درهای کشویی بسته شده و موش آزمایشگاهی در محفظه میانی محصور می‌شود. موش (غریبه) ناآشنایی را در یکی از سیلندرها قرار داده و در یکی از اتاق‌های کناری قرار می‌گیرد. سیلندر در محفظه دیگر خالی است. پس از قرار دادن موش غریبه، درها باز می‌شوند و موش آزمایشگاهی به هر سه اتاق دسترسی دارد. افزایش زمان سپری شده در محفظه و در محیط اطراف سیلندر با موش غریبه نشانگر ترجیح محرک اجتماعی در مقایسه با قفس خالی است. مرحله تبعیض اجتماعی (۵ دقیقه)، مجدداً، موش آزمایشگاهی به اتاق میانی محدود می‌شود. موش ناشناخته دیگری (غریبه جدید) در سیلندری قرار دارد که در خلال آزمایش اجتماعی بودن خالی بود. موش غریبه اول در موقعیت خود در سیلندر و محفظه خود قرار دارد. درهای کشویی باز شده و موش آزمایشگاهی به محفظه‌های جانبی دسترسی پیدا می‌کند. انتظار می‌رود موش آزمایشگاهی زمان بیش‌تری را با غریبه جدید بگذراند تا غریبه قدیمی و افزایش زمان صرف شده با غریبه جدید اندازه‌گیری توانایی تمایز موش آزمایشگاهی و شاخصی برای حافظه کوتاه مدت است (۲۴-۲۱).

تست زمینه باز (Open Field)

برای ارزیابی نقص حرکتی احتمالی و اضطراب حیوان از آزمون جعبه باز استفاده شد. که شامل یک جعبه با ابعاد $40 \times 40 \times 40$ سانتی متر است که به ۱۶ خانه مساوی شامل بخش مرکزی و محیطی تقسیم می‌شود. در ابتدای آزمایش، موش‌ها به آرامی در محیط باز قرار گرفتند و حرکت موش در این فضا توسط یک دوربین به مدت ۵ دقیقه ثبت و مورد ارزیابی قرار گرفت. بین هر آزمایش، محفظه دستگاه با اتانول ۷۰ درصد تمیز شد.

یافته‌ها

نتایج اثر هورمون تستوسترون بر فعالیت حرکتی افقی به دنبال مصرف مت آمفتامین

نتایج آنالیز واریانس یک طرفه نشان می‌دهد که میزان فعالیت حرکتی افقی در گروهی که مت آمفتامین مصرف کرده بودند نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشته است ($P < 0/001$). از طرف دیگر یافته‌های نشان می‌دهد که تجویز تستوسترون در دوز ۱ توانسته بود باعث کاهش فعالیت حرکتی به دنبال تزریق مت آمفتامین گردد ($P < 0/05$). هر چند تجویز تستوسترون در دوزهای دیگر اثر معنا داری روی فعالیت حرکتی نداشتند (نمودار شماره ۱).

نتایج اثر هورمون های تستوسترون بر رفتار های شبه اضطرابی به دنبال مصرف مت آمفتامین

یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد که مدت زمان حضور در مرکز در تست زمینه باز در گروهی که مت آمفتامین دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت ($P < 0/001$) (نمودار شماره ۲ و ۳). هم‌چنین مدت زمان حضور در محیط در تست زمینه باز در گروهی که مت آمفتامین دریافت کرده بودند نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت ($P < 0/001$). نتایج آماری نشان می‌دهد که تجویز تستوسترون در دوز ۱ mg/kg و ۵ mg/kg به‌طور معنی‌داری باعث افزایش حضور در مرکز و کاهش حضور در محیط در تست زمینه باز به دنبال مصرف مت آمفتامین گردد ($P < 0/05$). هر چند تجویز تستوسترون در دوز ۲۵ mg/kg اثر معنی‌داری روی مدت زمان حضور در محیط و یا مرکز در تست زمینه باز به دنبال تجویز مت آمفتامین نداشت. هم‌چنین نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که فعالیت حرکتی عمودی (کاوشگری) و نیز گرومینگ در گروهی که مت آمفتامین دریافت کرده بود افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت. از طرف دیگر گروه‌هایی که تستوسترون در دوز ۱ mg/kg و ۵ mg/kg

شاخص‌های فعالیت حرکتی، شاخص‌های رفتاری نظیر حرکات عمودی (Rearing) و گرومینگ (Grooming) و هم‌چنین مدت زمان ورود به محیط و مرکز به عنوان شاخص‌های اضطرابی در نظر گرفته شد. جهت اجتناب از تاثیر ریتم سیرکادین بر روی فعالیت‌های حرکتی حیوان، تمام تست‌ها در ساعت مشخصی از روز انجام شد (۲۵، ۱۸، ۷).

تعیین محتوی آب مغزی

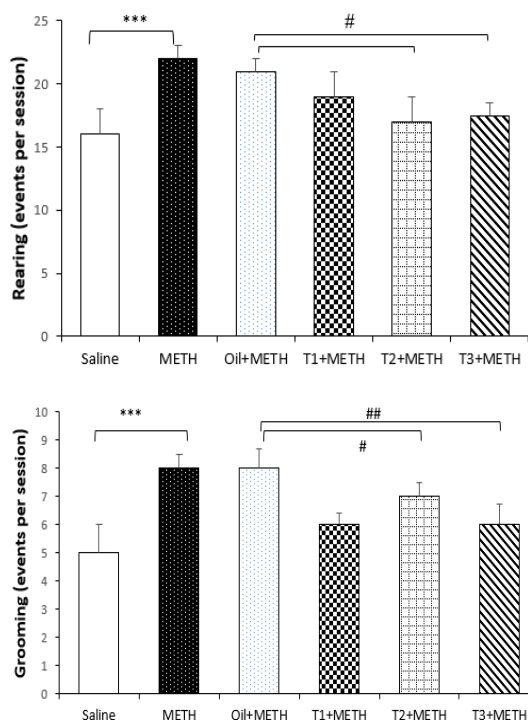
برای اندازه‌گیری ادم مغزی از روش اندازه‌گیری محتوی آب مغز استفاده شد بدین طریق که در پس از انجام تست‌های رفتاری و بعد از بیهوشی بافت مغز موش‌ها خارج شد. ابتدا وزن بافت (وزن تر) اندازه‌گیری شده و سپس به مدت ۷۲ ساعت در درجه حرارت ۶۰ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور گذاشته شد تا آب آن تبخیر و بافت خشک به دست آید که بافت مجدداً وزن گردید (وزن خشک) و در نهایت با استفاده از فرمول زیر میزان محتوی آب بافت مغز به صورت درصد محاسبه می‌شد (۲۶).

$$\text{وزن بافت خشک} - \text{وزن بافت تر} \times 100 = \text{درصد محتوی آب مغز}$$

وزن بافت تر

آنالیز آماری داده‌ها

جهت محاسبات آماری از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ استفاده شد. در ابتدا نرمال بودن داده‌ها از طریق آزمون توزیع نرمال Kolmogorov-Smirnov Test بررسی و با توجه به نرمال بودن داده‌ها جهت مقایسه متغیرهای کمی بین گروه‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) استفاده شد. در روش‌هایی نظیر اندازه‌گیری دما و سایر موارد از روش Repeated measures استفاده شد. در موارد معنی‌دار بودن آزمون ANOVA از آزمون‌های Post-hoc بونفرونی استفاده شد. سطح معنی‌داری $P < 0/05$ در نظر گرفته شد.

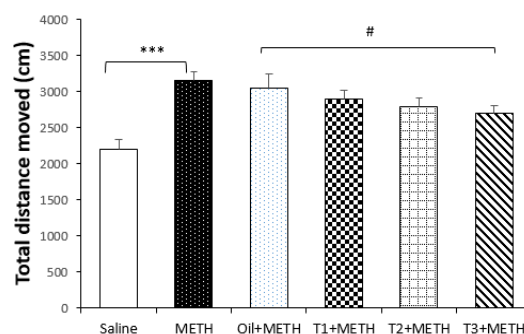


نمودار شماره ۳: مقایسه فعالیت حرکتی عمودی و گرومینگ در بین گروه‌های تحت درمان. $P < 0.001$ (***) در مقایسه با گروه سالین و $P < 0.05$ (#) در مقایسه با گروه حلال + مت آمفتامین، METH: مت آمفتامین، T1: تستوسترون دوز (۰/۲۵)، T2: تستوسترون دوز (۰/۵ mg/kg)، T3: تستوسترون دوز (۱ mg/kg)

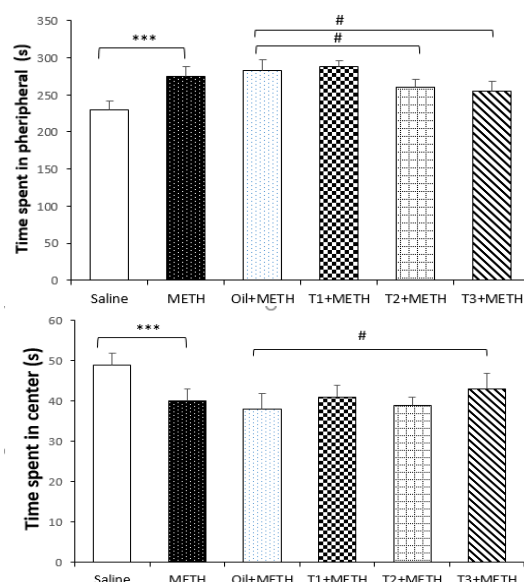
نتایج اثر هورمون تستوسترون بر ادم مغزی به دنبال مصرف مت آمفتامین

محتوای آب بافتی مغز به عنوان شاخصه ادم مغزی در نظر گرفته شد. آنالیز آماری نشان می‌دهد که ادم مغزی در گروهی که مت آمفتامین دریافت کرده بود افزایش معنی داری نسبت به گروه کنترل داشت. از طرف دیگر این مطالعه نشان داد که تنها در گروهی که تستوسترون دوز (۱ mg/kg) و دوز (۰/۵ mg/kg) دریافت کرده بودند میزان محتوای آب بافتی مغز کاهش معنی داری نسبت به گروهی که حلال دریافت کرده بود به دنبال مصرف مت آمفتامین نشان داد ($P < 0.05$). اما در سایر گروه‌ها تفاوت معنی داری وجود نداشت (نمودار شماره ۴).

دریافت کرده بودند میزان فعالیت حرکتی عمودی و نیز گرومینگ کاهش معنی داری نسبت به گروهی که حلال دریافت کرده بود به دنبال مصرف مت آمفتامین نشان داد. هر چند در گروه‌هایی که تستوسترون در دوز (۰/۲۵ mg/kg) دریافت کرده بودند، میزان گرومینگ در آن‌ها تفاوت معنی داری بین گروه وجود نداشت.

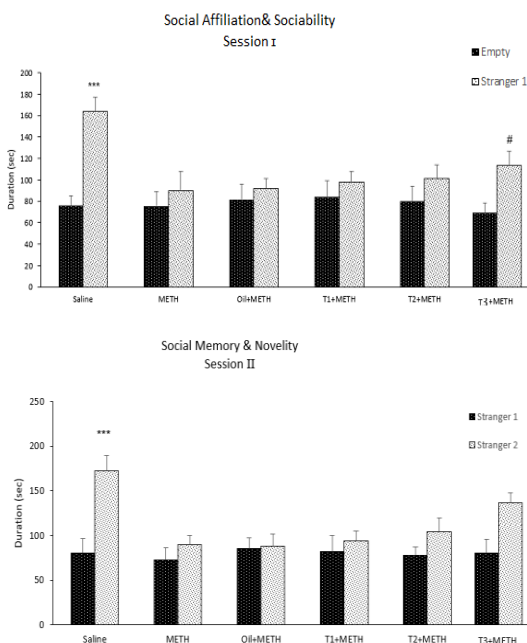


نمودار شماره ۱: مقایسه فعالیت حرکتی افقی در بین گروه‌های تحت درمان. $P < 0.001$ (***) در مقایسه با گروه سالین و $P < 0.05$ (#) در مقایسه با گروه حلال + مت آمفتامین، METH: مت آمفتامین، T1: تستوسترون دوز (۰/۲۵)، T2: تستوسترون دوز (۰/۵ mg/kg)، T3: تستوسترون دوز (۱ mg/kg)



نمودار شماره ۲: مقایسه رفتارهای شبه اضطرابی در بین گروه‌های تحت درمان. $P < 0.001$ (***) در مقایسه با گروه سالین و $P < 0.05$ (#) در مقایسه با گروه حلال + مت آمفتامین، METH: مت آمفتامین، T1: تستوسترون دوز (۰/۲۵)، T2: تستوسترون دوز (۰/۵ mg/kg)، T3: تستوسترون دوز (۱ mg/kg)

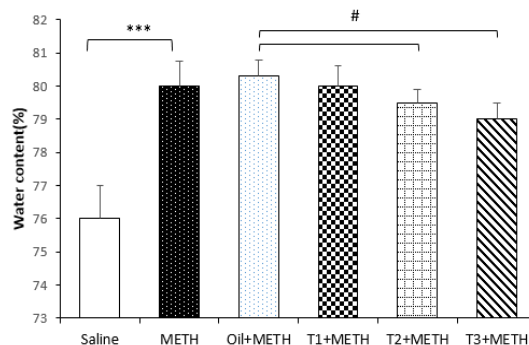
سپری کردند ($P < 0.01$). اما در سایر گروه‌ها نسبت به گروهی که مت آمفتامین دریافت کرده بودند تغییر معنی داری در هر دو مرحله دیده نشد.



نمودار شماره ۵: مقایسه حافظه اجتماعی در بین گروه‌های تحت درمان. $P < 0.001$ (***) در مقایسه با گروه سالین و $P < 0.05$ (#) در مقایسه با گروه حلال + مت آمفتامین، METH: مت آمفتامین، T1: تستوسترون دوز (۰/۲۵)، T2: تستوسترون دوز (۰/۵ mg/kg)، T3: تستوسترون دوز (۱ mg/kg)

بحث

مطالعه حاضر جهت بررسی اثرات احتمالی هورمون تستوسترون روی عملکردهای شناختی، ادم مغزی، اضطراب القا شده توسط مت آمفتامین در موش‌های گناتکتومی شده طراحی شد. یافته‌ها این مطالعه نشان می‌دهد که مت آمفتامین روی شاخص‌های حافظه اجتماعی و حافظه تشخیص شی جدید، اضطرابی، ادم مغزی بدن اثرات تخریبی دارد. از طرف دیگر در تجویز هورمون تستوسترون در دوز ۱ میلی گرم و ۰/۵ میلی گرم باعث بهبود شاخص‌های رفتاری، اضطرابی، ادم مغزی در موش‌هایی که مت آمفتامین دریافت کرده بودند، می‌شود. در مقابل، تجویز دوز ۰/۲۵ میلی گرم اثر



نمودار شماره ۴: مقایسه محتوای آب بافتی مغز در بین گروه‌های تحت درمان. $P < 0.001$ (***) در مقایسه با گروه سالین و $P < 0.05$ (#) در مقایسه با گروه حلال + مت آمفتامین، METH: مت آمفتامین، T1: تستوسترون دوز (۰/۲۵)، T2: تستوسترون دوز (۰/۵ mg/kg)، T3: تستوسترون دوز (۱ mg/kg)

همان‌طور که در نمودار شماره ۵ نشان داده شده است، در آزمون تعامل اجتماعی موش‌های گروه سالین نسبت به شناخت موش غریبه جدید که در قفسی در خانه شماره ۳ گذاشته شد مدت زمان بیشتری را برای جستجو و شناخت سپری کردند. پس از ورود موش دوم غریبه موش‌های گروه سالین زمان بیشتری را برای شناخت موش جدید که در خانه شماره ۱ گذاشته شد، سپری کردند. موش‌های گروه مت آمفتامین نسبت به گروه کنترل جهت شناخت موش غریبه جدید که در قفسی در خانه‌ی شماره ۳ گذاشته شد مدت زمان کم‌تری را برای جستجو و شناخت سپری کردند. پس از ورود موش دوم غریبه موش‌های گروه مت آمفتامین نسبت به گروه کنترل زمان کم‌تری را برای شناخت موش جدید که در خانه‌ی شماره ۱ گذاشته شد را سپری کردند ($P < 0.001$). موش‌هایی که تستوسترون دوز (۱ mg/kg) دریافت کرده بودند، نسبت به گروه مت آمفتامین که حلال دریافت کرده بود و جهت شناخت موش غریبه جدید که در قفسی در خانه شماره ۳ گذاشته شد مدت زمان بیشتری را برای جستجو و شناخت سپری کردند. هم‌چنین پس از ورود موش دوم موش‌های این گروه زمان بیشتری را نسبت به گروه مت آمفتامین برای شناخت موش جدید که در خانه شماره ۱ گذاشته شد را

معنی‌داری بر روی شاخص‌های شاخص‌های رفتاری، اضطرابی و ادم مغزی در موش‌هایی که مت آمفتامین دریافت کرده بودند، نداشته است.

یافته‌های این تحقیق نشان داد که تجویز دوز توکسیک مت آمفتامین منجر به اختلال حافظه اجتماعی و حافظه تشخیص شی جدید در موش‌های آزمایشگاهی ویستار می‌شود. در همین زمینه یافته‌های اخیر نشان می‌دهد که تجویز مت آمفتامین (6mg/kg) باعث بروز اختلال حافظه اجتماعی در هر دو مرحله socialability phase و social novelty phase در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی می‌شود (۲۲). از سویی دیگر توسط قزوینی و همکاران نشان داده‌اند که تجویز مت آمفتامین (6mg/kg) منجر به اختلال یادگیری و حافظه فضایی در ماز آبی موریس می‌شود و نیز اختلال LTP به‌عنوان مدل الکتروفیزیولوژیک تقویت طولانی مدت می‌گردد (۱۹، ۲۷). هم‌چنین در این مطالعه نشان داده شده است که تجویز استروژن و پروژسترون باعث بهبود اختلال حافظه و یادگیری بدنبال تجویز مت آمفتامین می‌گردد. در این زمینه Bechler و همکاران نشان داده‌اند که تزریق دوز (4mg/kg) مت آمفتامین بصورت زیرجلدی در مدل چهار بار در یک روز، منجر به اختلال حافظه در تست تشخیص شی جدید می‌شود (۲۸). مکانیسم‌های متعددی برای بروز اثرات مت آمفتامین پیشنهاد شده است که از جمله آن که مت آمفتامین منجر به آسیب به سیستم‌های نورونی سروتونرژیک و دوپامینرژیک، آسیب به نورون‌های هیپوکامپال، کاهش حجم هیپوکامپ و هیپر تروپی ماده سفید مغز و در نتیجه موجب اختلال حافظه در این بیماران می‌شود (۲۹). هم‌چنین یافته‌های جدید حاکی از آن است که هورمون جنسی تستوسترون اثرات محافظت عصبی و هم‌چنین در بهبود عملکردهای شناختی بسیار نقش برجسته‌ای دارد (۸).

برای مثال Yan و همکاران در مطالعه‌ای بروی مدلی موشی آلزایمر نشان دادند که تجویز تستوسترون (۰/۷۵ mg/kg) باعث بهبود عملکردهای شناختی و

هم‌چنین کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب می‌شود و بواسطه اثرات محافظت نورنی در بهبود حافظه فضایی نقش به‌سزایی دارد (۳۰). هم‌چنین یافته‌های جدید حاکی از نقش تستوسترون در بروز رفتارهای اجتماعی است. مطالعه حاضر نیز نشان داد که تزریق هورمون تستوسترون منجر به کاهش اختلال حافظه تشخیص شی جدید را به‌دنبال تجویز مت آمفتامین شد (۳۱). در همین زمینه یافته‌های تحقیق ابراهیم زاده و همکاران نشان داد که تجویز تستوسترون (۲ mg/kg) باعث بهبود حافظه تشخیص شی جدید و افزایش سطح BDNF در موش‌های گنادکتومی دیابتی شد (۳۲).

در مطالعه‌ای دیگر، فیض‌اله و همکاران در سال ۲۰۱۵ نشان داده‌اند که تزریق درون مغزی تستوسترون باعث بهبود عملکردهای رفتاری و حافظه فضایی در مدل موشی مالتیپل اسکلوزیس شده است (۳۳). اگرچه مطالعات مختلفی حاکی از بهبود عملکردهای شناختی نظیر حافظه و یادگیری به‌دنبال تجویز تستوسترون است، اما در مقابل مطالعاتی نیز نشان می‌دهد که تستوسترون اثرات منفی بر روی حافظه و یادگیری دارد. برای مثال، امامیان و همکاران در سال ۲۰۱۰ نشان داده‌اند که تزریق درون هیپوکمپی تستوسترون باعث تخریب یادگیری و حافظه و هم‌چنین افزایش سلول‌های استروستی در موش‌های ویستار شد (۳۴). این تفاوت‌ها بین مطالعات پیش‌رو با سایر گزارشات می‌تواند به‌علت فاکتورهای مختلفی باشد. اثرات سودمند درمان با تستوسترون می‌تواند به نوع مدل بیماری انجام شده، دوز، سن و هم‌چنین تا حدی با مدت زمان و نحوه درمان با این هورمون‌ها مرتبط است. از طرف دیگر یافته‌های این تحقیق نشان می‌دهد که تجویز مت آمفتامین باعث ایجاد ادم مغزی می‌شود که به نظر می‌رسد این ادم مغزی در با التهاب ایجاد شده در مغز موش‌های آزمایشگاهی مرتبط باشد. در این زمینه مطالعات اخیر نشان داده شده است که تجویز مت آمفتامین باعث بروز ادم مغزی در موش‌های دریافت‌کننده دوز توکسیک مت آمفتامین می‌شود.

هم چنین مطالعات نشان می دهد که تجویز هورمون های جنسی می تواند باعث کاهش ادم مغزی و التهاب به دنبال آسیب های مغزی نظیر توکسیسیته القا شده توسط مت آمفتامین گردد (۳۵،۱۸).

در این مطالعه نیز تستوسترون در دوز (۱ mg/kg) و دوز (۰/۵ mg/kg) توانست ادم مغزی را کاهش دهد، هر چند که در بعضی از مقالات نشان داده شده است که ارتباط معنی داری بین تستوسترون و ادم مغزی وجود ندارد (۳۷،۳۶). در هر صورت به نظر می رسد تستوسترون با کاهش التهاب و استرس اکسیداتیو و بهبود عملکرد سد خونی مغزی و هم چنین کاهش سمیت عصبی باعث کاهش ادم مغزی شود (۳۹،۳۸).

نتایج رفتاری این مطالعه نشان داده که تزریق دوز (6mg/kg) مت آمفتامین باعث بروز رفتارهای شبه اضطرابی می شود که در موافقت با سایر تحقیقات انجام شده در زمینه اثرات دوز توکسیک مت آمفتامین بر روی اختلالات رفتاری و شبه اضطرابی است (۴۲-۴۰). مطالعات قبلی تیم نویسندگان حاکی از ارتباط قوی بین کارایی سیناپسی و عملکرد در ناحیه CA1 هیپوکمپ و شاخص های اضطرابی وجود دارد (۱۸،۷). قزوینی و همکاران در مطالعه اخیر نشان دادند که هیپوکمپ به شدت به نوروتوکسیسیته ناشی از مت آمفتامین حساس است و باتوجه به ارتباط قوی بین نوروتوکسیسیته مت آمفتامین و مرگ نورونی با رفتارهای شبه اضطرابی به نظر می رسد مرگ نورونی ناحیه CA1 هیپوکمپ در ارتباط

با شاخصه های اضطرابی باشد. در این زمینه Sturmtz و همکاران نشان داده اند که تزریق دوز (4mg/kg) مت آمفتامین به صورت زیر جلدی در مدل چهار بار در یک روز، منجر به افزایش فعالیت حرکتی و نیز رفتارهای شبه اضطرابی می گردد (۴۱). در همین زمینه مطالعات گسترده حاکی از نقش آنتی اکسیدانتی و نوروپروتکتیوی هورمون های جنسی دارد. در همین یافته های اخیر نشان می دهد که استروژن و پروژسترون باعث کاهش مرگ نورونی در نورن های هیپوکمپ و نیز بهبود رفتارهای شبه اضطرابی می گردد (۴۳-۴۷). در همین زمینه و در موافقت با مطالعه حاضر نشان داده شده است که تجویز تستوسترون در موش های کوچک آزمایشگاهی باعث کاهش اضطراب در تست ماز به علاوه مرتفع و هم چنین بهبود عملکردهای رفتاری شد (۴۸). به نظر می رسد تستوسترون با اثر بر روی گیرنده های گابا A- و مهار نورن های پس سیناپسی باعث بروز اثرات ضد اضطرابی می شود، همانند اتفاقی که بدنبال مصرف بنزودیازپین ها در جهت کاهش اضطراب رخ می دهد (۴۹). در مجموع، در این مطالعه نشان داده شد که تجویز دوز توکسیک مت آمفتامین منجر به اختلال رفتاری و بروز رفتارهای شبه اضطرابی، ادم مغزی می گردد. هم چنین این مطالعه نشان می دهد که هورمون تستوسترون تا حدی باعث شاخص های رفتاری، اضطرابی، ادم مغزی در موش هایی که مت آمفتامین دریافت کرده بودند، می گردد.

References

1. Siahjani L, Oraki M, Zare H. Length of methamphetamine abuse and sustained attention disorders among methamphetamine abusers. Etiadpajohi 2013; 7(27): 53-66 (Persian).
2. Barati M, Allahverdipour H, Jalilian F. Prevalence and predictive factors of psychoactive and hallucinogenic substance abuse among college students. Journal of Fundamentals of Mental Health 2012; 13(4)(52): 374-383 (Persian).
3. Jones CM, Houry D, Han B, Baldwin G, Vivolo-Kantor A, Compton WM. Methamphetamine use in the United States: epidemiological update and implications for prevention, treatment, and harm reduction. Ann N Y

- Acad Sci 2022; 1508(1): 3-22.
4. Cruickshank CC, Dyer K. A review of the clinical pharmacology of methamphetamine. *Addiction* 2009; 104(7): 1085-1099.
 5. Ghazvini H, Tirgar F, Khodamoradi M, Seyedhosseini Tamijani SM, Niknamfar S, Akbari E, et al. Investigating Facilitatory Effects of Lithium on Methamphetamine-induced Spatial Memory Impairments in Rat. *Basic & Clinical Neuroscience* 2023; 14(5): 605-614.
 6. Glasner-Edwards S, Mooney LJ. Methamphetamine psychosis: epidemiology and management. *CNS Drugs* 2014; 28: 1115-1126.
 7. Ghalehnoei H, Ghazvini H, Mellati A, Seyedhosseini Tamijani SM, Rafeiee R, Elyasi L, et al. Effects of estrogen and progesterone on behavioral impairment and neuronal death in ovariectomized rats induced by methamphetamine. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2020; 30(186): 1-12 (Persian).
 8. Biaek M, Zaremba P, Borowicz KK, Czuczwar SJ. Neuroprotective role of testosterone in the nervous system. *Pol J Pharmacol* 2004; 56(5): 509-518.
 9. Lv W, Du N, Liu Y, Fan X, Wang Y, Jia X, et al. Low testosterone level and risk of Alzheimer's disease in the elderly men :a systematic review and meta-analysis. *Mol Neurobiol* 2016; 53(4): 2679-2684.
 10. Bourque M, Soulet D, Di Paolo T. Androgens and Parkinson's disease: a review of human studies and animal models. *Androg Clin Res Ther* 2021; 2(1): 294-303.
 11. Markianos M, Panas M, Kalfakis ND. Vassilopoulos, Plasma testosterone in male patients with Huntington's disease: relations to severity of illness and dementia, *Annals of neurology* 2005; 57(4): 520-525.
 12. Sarkey S, Azcoitia I, Garcia-Segura LM, Garcia-Ovejero D, DonCarlos LL. Classical androgen receptors in non-classical sites in the brain. *Horm Behav* 2008; 53(5): 753-764.
 13. Koss WA, Frick KM. Activation of androgen receptors protects intact male mice from memory impairments caused by aromatase inhibition. *Hormones and Behavior* 2019; 111: 96-104.
 14. Cherrier MM, Matsumoto A, Amory J, Asthana S, Bremner W, Peskind E, et al. Testosterone improves spatial memory in men with Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Neurology* 2005; 64(12): 2063-2068.
 15. Okun MS, Fernandez HH, Rodriguez RL, Romrell J, Suelter M, Munson S, et al. Testosterone Therapy in Men With Parkinson Disease: results of the TEST-PD Study. *Arch Neurol* 2006; 63(5): 729-735.
 16. Hebbard PC, King RR, Malsbury CW, Harley CW. Two organizational effects of pubertal testosterone in male rats: transient social memory and a shift away from long-term potentiation following a tetanus in hippocampal CA1. *Exp Neurol* 2003; 182(2): 470-475.
 17. Domonkos E, Hodosy J, Ostatníková D, Celec P. On the role of testosterone in anxiety-like behavior across life in experimental rodents. *Front Endocrinol* 2018; 9: 441.
 18. Ghazvini H, Tirgar F, Khodamoradi M, Akbarnejad Z, Rafeiee R, Tamijani SMS, et al. Ovarian hormones prevent methamphetamine-induced anxiety-related behaviors and neuronal damage in ovariectomized rats. *Neurosci lett* 2021; 746: 135652.
 19. Ghazvini H, Khaksari M, Esmaeilpour K, Shabani M, Asadi-Shekaari M, Khodamoradi M, et al. Effects of treatment with estrogen and progesterone on the methamphetamine-

- induced cognitive impairment in ovariectomized rats. *Neurosci Lett* 2016; 619: 60-67.
20. Hajali V, Sheibani V, Ghazvini H, Ghadiri T, Valizadeh T, Saadati H, et al. Effect of castration on the susceptibility of male rats to the sleep deprivation-induced impairment of behavioral and synaptic plasticity. *Neurobiol Learn Mem* 2015; 123: 140-148.
 21. Ter Horst JP, van der Mark M, Kentrop J, Arp M, van der Veen R, de Kloet ER, Oitzl MS. Deletion of the forebrain mineralocorticoid receptor impairs social discrimination and decision-making in male, but not in female mice. *Front Behav Neurosci* 2014; 8: 26.
 22. Khodamoradi M, Tirgar F, Ghazvini H, Rafeiee R, Tamijani SMS, Karimi N, et al. Role of the cannabinoid CB1 receptor in methamphetamine-induced social and recognition memory impairment. *Neurosci Lett* 2022; 779: 136634.
 23. Azimi Sanavi M, Ghazvini H, Zargari M, Ghalehnoei H, Hosseini-Khah Z. Effects of clozapine and risperidone antipsychotic drugs on the expression of CACNA1C and behavioral changes in rat 'Ketamine model of schizophrenia'. *Neurosci Lett* 2022; 770: 136354.
 24. Gheibi M, Nazari S, Ghazvini H, Rafeiee R, Ranaiy MS, Seyedhosseini Tamijani SM. The effect of Intraventricular Injection of Kisspeptin-13 on Social Memory Deficits Induced by Methamphetamine. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2024; 34(231): 1-10 (Persian).
 25. Khalifeh S, Khodamoradi M, Hajali V, Ghazvini H, Eliasy L, Kheradmand A, et al. Naloxone ameliorates spatial memory deficits and hyperthermia induced by a neurotoxic methamphetamine regimen in male rats. *Galen Med J* 2019; 8: e1182.
 26. Koyama Y, Matsui S, Itoh S, Osakada M, Baba A, Matsuda T. The selective Na⁺-Ca²⁺ exchange inhibitor attenuates brain edema after radiofrequency lesion in rats. *Eur J Pharmacol* 2004; 489(3): 193-196.
 27. Ghazvini H, Shabani M, Asadi-Shekaari M, Khalifeh S, Esmaeilpour K, Khodamoradi M, et al. Estrogen and progesterone replacement therapy prevent methamphetamine-induced synaptic plasticity impairment in ovariectomized rats. *Addict Health* 2016; 8(3): 145.
 28. Belcher AM, Feinstein EM, O'Dell SJ, Marshall JF. Methamphetamine influences on recognition memory: comparison of escalating and single-day dosing regimens. *Neuropsychopharmacology* 2008; 33(6): 1453-1463.
 29. Coelho-Santos V, Gonçalves J, Fontes-Ribeiro C, Silva AP. Prevention of methamphetamine-induced microglial cell death by TNF- α and IL-6 through activation of the JAK-STAT pathway. *J Neuroinflammation* 2012; 9: 103.
 30. Yan XS, Yang ZJ, Jia JX, Song W, Fang X, Cai ZP, et al. Protective mechanism of testosterone on cognitive impairment in a rat model of Alzheimer's disease. *Neural Regen Res* 2019; 14(4): 649-657.
 31. Zavvari F, Karimzadeh F. A review on the behavioral tests for learning and memory assessments in rat. *The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam* 2017; 5(4): 110-124.
 32. Ebrahimzadeh M, Shahabi P, Mohaddes G, Babri S, Mohammadi M, Moslem A, Mohammad-zadeh M. Effect of testosterone on memory and BDNF levels of hippocampus in gonadectomized diabetic rats. *Biosci Biotechnol Res Asia* 2015; 12(3): 2433-2440.
 33. Feizollah S, Khezri S. Protective effect of testosterone on cognitive deficits induced by ethidium bromide in experimental model of multiple sclerosis. *Tehran Univ Med J* 2015; 73(8): 561-568 (Persian).

34. Emamian S, Naghdi N, Sepehri H, Jahanshahi M, adeghi Y, Chooapani S. Learning impairment caused by intra-CA1 microinjection of testosterone increases the number of astrocytes. *Behav Brain Res* 2010; 208(1): 30-37.
35. Naderi V, Khaksari M, Abbasi R, Maghool F. Estrogen provides neuroprotection against brain edema and blood brain barrier disruption through both estrogen receptors α and β following traumatic brain injury. *Iran J Basic Med Sci* 2015; 18(2): 138-144.
36. Chen Z, Xi G, Mao Y, Keep RF, Hua Y. Effects of progesterone and testosterone on ICH-induced brain injury in rats. *Acta Neurochir Suppl* 2011; 111: 289-293.
37. Lopez-Rodriguez AB, Acas-Fonseca E, Spezzano R, Giatti S, Caruso D, Viveros MP, et al. Profiling neuroactive steroid levels after traumatic brain injury in male mice. *Endocrinology* 2016; 157(10): 3983-3993.
38. Barreto G, Veiga S, Azcoitia I, Garcia-Segura LM, Garcia-Ovejero D. Testosterone decreases reactive astroglia and reactive microglia after brain injury in male rats: role of its metabolites, oestradiol and dihydrotestosterone. *Eur J Neurosci* 2007; 25(1): 3039-3046.
39. Dluzen DE. Effects of testosterone upon MPTP-induced neurotoxicity of the nigrostriatal dopaminergic system of C57/B1 mice. *Brain Res* 1996; 715(1-2): 113-118.
40. Schutová B, Hrubá L, Pometlová M, Rokyta R, Šlamberová R. Responsiveness to methamphetamine in adulthood is altered by prenatal exposure in rats. *Physiol Behav* 2010; 99(3): 381-387.
41. Struntz KH, Siegel JA. Effects of methamphetamine exposure on anxiety-like behavior in the open field test, corticosterone, and hippocampal tyrosine hydroxylase in adolescent and adult mice. *Behav Brain Res* 2018; 348: 211-218.
42. Arakawa O. Effects of methamphetamine and methylphenidate on single and paired rat open-field behaviors. *Physiology & Behavior* 1994; 55(3): 441-446.
43. Zhang Z, Hong J, Zhang S, Zhang T, Sha S, Yang R, et al. Postpartum estrogen withdrawal impairs hippocampal neurogenesis and causes depression-and anxiety-like behaviors in mice. *Psychoneuroendocrinology* 2016; 66: 138-149.
44. Miller NR, Jover T, Cohen HW, Zukin RS, Etgen AM. Estrogen can act via estrogen receptor α and β to protect hippocampal neurons against global ischemia-induced cell death. *Endocrinology* 2005; 146(7): 3070-3079.
45. Jover T, Tanaka H, Calderone A, Oguro K, Bennett MV, Etgen EM, et al. Estrogen protects against global ischemia-induced neuronal death and prevents activation of apoptotic signaling cascades in the hippocampal CA1. *J Neurosci* 2002; 22(6): 2115-2124.
46. 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): 1097-1111.
47. Reddy DS, O'Malley BW, Rogawski MA. Anxiolytic activity of progesterone in progesterone receptor knockout mice. *Neuropharmacology* 2005; 48(1): 14-24.
48. Raynaud J, Schradin C. Experimental increase of testosterone increases boldness and decreases anxiety in male African striped mouse helpers. *Physiology & Behavior* 2014; 129: 57-63.
49. Aikey JL, Nyby JG, Anmuth DM, James PJ. Testosterone rapidly reduces anxiety in male house mice (*Mus musculus*). *Horm Behav* 2002; 42(4): 448-460.