ORIGINAL ARTICLE

Effects of Estrogen and Progesterone on Behavioral Impairment and Neuronal Death in Ovariectomized Rats Induced by Methamphetamine

Hossein Ghalehnoei[1],
Hamed Ghazvini[2],
Amir Mellati[3],
Seyedeh Masoumeh Seyedhosseini Tamijani[2],
Raheleh Rafaiee[2],
Leila Elyasi[4],
Mehdi Khodamoradi[5],
Ali Siahposht Khachaki[6],
Morteza Hosseini[7]

[1] Assistant Professor, Department of Medical Biotechnology, Molecular and Cell Biology Research Center, Faculty of Advanced Technologies in Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Neuroscience, Faculty of Advanced Technologies in Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] Assistant Professor, Department of Tissue Engineering, Faculty of Advanced Technologies in Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[4] Assistant Professor, Department of Anatomy, Neuroscience Research Center, Faculty of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran
[5] Assistant Professor, Substance Abuse Prevention Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
[6] Assistant Professor, Psychiatry and Behavioral Sciences Research Center, Addiction Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[7] Medical Student, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received February 19, 2020 ; Accepted June 6, 2020)

Abstract

Background and purpose: Methamphetamine (METH) is one of the most powerful drugs that leads to many cognitive and behavioral side effects such as anxiety. On the other hand, studies have shown that ovarian hormones such as estrogen and progesterone have neuroprotective effects on a wide range of cognitive and behavioral disorders. The aim of this study was to investigate the role of estrogen and progesterone on anxiety-like behaviors, body temperature, brain edema, and neuronal death induced by neurotoxic regimen of methamphetamine.

Materials and methods: This study was performed in 48 ovariectomized rats divided into six groups including: control, METH (6mg / kg), vehicle (sesame oil), METH + estrogen (1mg / kg), METH + progesterone (8mg / kg), and METH + estrogen + progesterone. Body temperature and anxiety-like behaviors were investigated, then, the animals were killed and brain tissues were harvested to evaluate brain edema and neuronal death in hippocampal CA1.

Results: Body temperature, brain water content, motor activity, and anxiety-related behaviors significantly increased in animals that received METH ($P<0.001$), but, treatment with estrogen and progesterone attenuated motor activity, and anxiety-related behaviors induced by METH. Brain edema, body temperature, and neuronal cell death in hippocampal CA1 area partially decreased in METH+estrogen and METH + progesterone groups.

Conclusion: This study suggests that ovarian hormones such as estrogen and progesterone are effective in improving behavioral deficits and neuronal death induced by METH in ovariectomized rats.

Keywords: methamphetamine, estrogen, progesterone, anxiety, brain edema, body temperature, neuronal death

J Mazandaran Univ Med Sci 2020; 30 (186): 1-12 (Persian).

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

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-15]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی ام شماره 186 تیر سال 1399 (12-1)

تاثیر هورمون‌های استروژن و پروژسترون بر آسیب عملکردهای رفتاری و مرگ نورونی القا شده توسط مت‌آمفتامین در موش‌های اواریکتومی

حسین قلعه نویی[1]
حامد قزوینی [2]
امیر ملتی[3]
سیده معصومه سید حسینی تمیجانی[2]
راحله رفائی[2]
لیلا الیاسی[4]
مهدی خدامرادی[5]
علی سیاه پشت خاچکی[6]
مرتضی حسینی[7]

چکیده

سابقه و هدف: مت‌آمفتامین یکی از داروهای مورد سوءمصرف است که دارای عوارض شناختی و رفتاری نظیر اضطراب است. از طرف دیگر مطالعات نشان داده است که هورمون‌های استروژن و پروژسترون دارای آثار نوروپروتکتیو در برابر اختلالات شناختی و رفتاری می‌باشند. لذا در این مطالعه نقش هورمون‌های استروژن و پروژسترون در رفتارهای شبه اضطرابی، درجه حرارت بدن، ادم مغزی و مرگ نورونی ناشی ازمصرف دوز توکسیک مت‌آمفتامین مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی از 48 راس موش صحرایی اواریکتومی‌شده در 6 گروه شامل گروه‌های کنترل، مت‌آمفتامین (6mg/kg)، حلال (روغن کنجد)، مت‌آمفتامین +استروژن (1mg/kg)، مت‌آمفتامین+ پروژسترون (8mg/kg) و مت‌آمفتامین+استروژن+پروژسترون انجام شد. پس از بررسی درجه حرارت بدن و شاخص رفتارهای شبه اضطرابی، حیوانات کشته شده و بافت مغز جهت ارزیابی ادم مغزی و مرگ نورونی در ناحیه CA1 هیپوکمپ مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها: دمای بدن، محتوای آب مغزی، فعالیت حرکتی و رفتارهای شبه اضطرابی در موش‌هایی که مت‌آمفتامین دریافت کرده بودند افزایش معنی‌داری داشت و تجویز هورمون‌های استروژن و پروژسترون باعث تضعیف فعالیت حرکتی، رفتارهای شبه اضطرابی، ادم مغزی و مرگ نورونی در ناحیه CA1 هیپوکمپ ناشی از مت‌آمفتامین شد.

استنتاج: در مجموع مطالعه حاضر پیشنهاد می‌کند که هورمون‌های تخمدانی نظیر استروژن و پروژسترون می‌تواند در بهبود اختلالات رفتاری و مرگ نورونی ناشی از تجویز مت‌آمفتامین موثر باشند.

واژه های کلیدی: مت‌آمفتامین، استروژن، پروژسترون، اضطراب، ادم مغزی، درجه حرارت بدن، مرگ نورونی

مقدمه

بسیاری از داروهای روان‌گردان از جمله آمفتامین‌ها به طور گسترده‌ای در جوامع امروزی مورد سوء مصرف قرار می‌گیرند. از جمله مهم‌ترین داروهای دسته آمفتامین‌ها، مت‌آمفتامین (METH – Methamphetamine) به شمار

مولف مسئول: حامد قزوینی - ساری: دانشگاه علوم پزشکی مازندران، دانشکده فناوری های نوین پزشکی E-mail : hghazvini1@gmail.com
1. استادیار، گروه زیست فناوری پزشکی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشکده فناوری های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
2. استادیار، گروه علوم اعصاب، دانشکده فناوری های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
3. استادیار، گروه مهندسی بافت، دانشکده فناوری های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
4. استادیار، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، گروه علوم تشریح،دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران
5. استادیار، مرکز تحقیقات پیشگیری از سوء مصرف مواد، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
6. استادیار، مرکز تحقیقات روانپزشکی و علوم رفتاری، پژوهشکده اعتیاد، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
7. دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت : 1398/11/30 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :1398/12/10 تاریخ تصویب : 1399/3/17

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-15]

می‌رود، که مصرف آن‌ها منجر به بروز رفتارهای پاداشی می‌شود و تداوم مصرف آن‌ها باعث بروز حساسیت، وابستگی و رفتارهای جستجوگرایانه و همچنین اختلالات گسترده در سیستم عصبی مرکزی می‌شود(1). در همین زمینه مطالعات مختلف نشان می‌دهند که سوءمصرف مت‌آمفتامین‌ها می‌تواند منجر به آسیب سیستم نورونی مونوآمینرژیک شده و بدین‌ترتیب عوارض متعددی بواسطه التهاب و ادم مغزی ایجاد کرده که نهایتا منجر به مرگ نورونی می‌شود(2). به علاوه یافته‌های اخیر نشان می‌دهد که تجویز مت‌آمفتامین منجر به بروز اختلالات شناختی از جمله اختلال حافظه و یادگیری و بروز رفتارهای اضطرابی می‌شود(5-3). در مقابل اثرات مضر مصرف مت‌آمفتامین بر سیستم عصبی، هورمون‌های تخمدانی، به‌خصوص استروژن و پروژسترون دارای اثرات محافظت نورونی (Neuroprotective) می‌باشند(7،6). نقشی که هورمون‌های جنسی، به‌ویژه استروژن و پروژسترون در سیستم عصبی اعمال می‌کنند فراتر از نقش بسیار مهم آن‌ها در فرایندهای تولید مثلی است. استروژن از طریق گیرنده‌های استروژنی در مغز، عملکرد سیستم عصبی را به طور مستقیم تحت تأثیر قرار می‌دهد. حضور mRNA گیرنده استروژنی بتا (Estrogen receptor β-ERβ) در مناطقی از مغز از قبیل مخچه، تشکیلات هیپوکامپ و پیازهای بویایی، پیشنهاد می‌کند که این گیرنده باید به عنوان یک واسطه قوی برای استروژن در این مناطق مغز مورد توجه قرار گیرد. استروژن و دیگر استروئیدها بر روی تحریکات عصبی اثر می‌گذارند(9،8). اهمیت هورمون‌های جنسی نظیر استروژن و پروژسترون به حدی است که برای تکامل طبیعی مغز ضروری می‌باشند و بدون حضور این هورمون‌ها مغز سیر طبیعی بلوغ خود را طی نمی‌کند. مشخص شده است که استروژن و پروژسترون سبب بهبود حافظه هم در زنان یائسه و هم در موش‌های اواریکتومی‌شده می‌شوند(12-10). در همین راستا پژوهش‌ها نشان می‌دهند که استروژن باعث افزایش حافظه فضایی در مدل حیوانی موش صحرایی می‌شود(13). در همین زمینه اخیرا قزوینی و همکاران نشان داده‌اند که تزریق طولانی مدت هورمون‌های تخمدانی باعث بهبود عملکرد حافظه و یادگیری بدنبال تزریق مت‌آمفتامین در موش صحرایی می‌شود(15،14). همچنین یافته‌های جدید نشان می‌دهند که تزریق استروژن و پروژسترون باعث کاهش ادم مغزی و مرگ نورونی می‌گردد که ارتباط مهمی با عملکردهای شناختی و رفتارهای خلقی دارد(19-16). لذا در این مطالعه اثرات مصرف حاد استروژن و پروژسترون بر عملکرد شناختی و نیز ادم مغزی، دمای بدن و مرگ نورونی در ناحیه هیپوکمپ به‌دنبال مصرف دوز توکسیک مت‌آمفتامین در مدل موش صحرایی اوراریکتومی‌شده مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی از 48 رأس موش صحرایی سفید بالغ از نژاد ویستار در محدوده وزنی 250-200 گرم تهیه شده از انستیتوی حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی مازندران استفاده شد. حیوانات به تعداد 4 رأس در قفس‌های مخصوص نگهداری شده و دسترسی آزادانه به آب و غذا داشتند. دمای حیوانخانه بطور ثابت در محدوده 1±23 °C و دوره‌های روشنایی - تاریکی 12 ساعته حفظ شد. آزمایش‌ها با توجه به دستورالعمل کمیته کنترل و نظارت بر حیوانات آزمایشگاهی و کمیته اخلاق (کد اخلاق: IR.MAZUMS..REC.1398.5474) انجام شد.

گروه بندی موش‌های صحرایی تحت مطالعه

برای این مطالعه از 6 گروه از موش‌های صحرایی بالغ ماده اواریکتومی‌شده برای آزمایش‌های رفتاری و بافت‌شناسی استفاده شد. حیوانات بطور تصادفی به 6 گروه 8 تایی تقسیم شدند:

1-گروه کنترل: در این گروه سه هفته پس از اواریکتومی، حیوانات سالین دریافت کردند.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-15]

2-گروه مت‌آمفتامین: در این گروه سه هفته پس از اواریکتومی، حیوانات مت‌آمفتامین (6mg/kg) (14) دریافت کردند.

3- گروه حلال استروژن و پروژسترون: در این گروه سه هفته پس از اواریکتومی، حیوانات حلال روغن کنجد دریافت کردند.

4-گروه مت‌آمفتامین+ استروژن: در این گروه سه هفته پس از اواریکتومی، حیوانات هم مت‌آمفتامین و هم استروژن (1mg/kg)(14) دریافت نمودند.

5-گروه مت‌آمفتامین+ پروژسترون: در این گروه سه هفته پس از اواریکتومی، حیوانات هم مت‌آمفتامین و پروژسترون (8mg/kg)(14) دریافت کردند.

6-گروه مت‌آمفتامین+ استروژن+ پروژسترون: در این گروه سه هفته پس از اواریکتومی، حیوانات هم مت‌آمفتامین و استروژن و پروژسترون دریافت کردند.

رفتارهای اضطرابی و حرکتی با استفاده از تست Open field انجام شد. پس از انجام آزمون‌های رفتاری حیوانات همه گروه‌ها قربانی شده، مغز آن‌ها خارج گردید و نیمی از نمونه‌های هر گروه مورد مطالعه بافت‌شناسی و نیمی دیگر مورد مطالعه از نظر ادم مغزی قرار گرفت. روش اجرای آزمایش در شمای کلی در تصویر شماره 1 نمایش داده شده است.

بررسی فعالیت حرکتی و اضطرابی

فعالیت لوکوموتور به‌صورت جداگانه و توسط آزمون جعبه باز (Open field test) نیز بررسی شد. بدین منظور از یک جعبه PVC با ابعاد 40cm×40cm×40cm استفاده شد. کف جعبه به 16 مربع هم اندازه تقسیم شد که شامل نواحی مرکزی و محیطی می‌شدند. فعالیت حرکتی حیوانات (در هر ترایال) توسط یک دوربین به مدت 5 دقیقه بررسی شد. فاکتورهایی که بررسی شد شامل کل مسافت طی شده (فعالیت افقی) برای بررسی فعالیت لوکوموتور و مدت زمان طی شده در مربع‌های مرکزی و محیطی و تعداد Rearing و Grooming (فعالیت عمودی) برای بررسی رفتارهای اضطرابی بود(20،21).

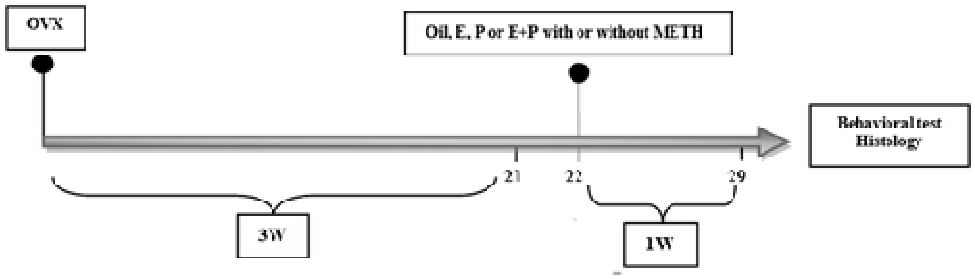
روش اندازه گیری محتوای آب مغز

میزان ادم مغزی با استفاده از محتوای آب مغزی اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری محتوای آب مغز، آن را سریعاً بدون دستکاری زیاد خارج نموده و سپس وزن آن اندازه‌گیری شد. سپس در دمای 70-60 درجه سانتی‌گراد به مدت 72 ساعت قرار گرفت تا میزان وزن بافت خشک به‌دست آید و درنهایت با استفاده از فرمول زیر میزان آب بافت مغز به عنوان شاخص ادم محاسبه شد(17).

$$\text{درصد محتوای آب} = \frac{\text{وزن بافت خشک - وزن بافت مرطوب}}{\text{وزن بافت مرطوب}} \times 100$$

درجه حرارت بدن

دمای داخلی بدن رت‌ها توسط Thermistorprobe که تا 2 سانتی‌متر به داخل رکتوم وارد می‌گردید اندازه گرفته شد، قبل از تزریق مت‌آمفتامین دمای بدن حیوان اندازه گرفته شده و پس از تزریق مت‌آمفتامین در



تصویر شماره 1: تصویر شماتیک روش اجرای این مطالعه. (OVX: اورایکتومی، E: استروژن، P: پروژسترون، METH: مت‌آمفتامین)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-15]

زمان‌های 0، 2، 4 و6 ساعت پس از تزریق که در واقع به ازای دوزهای 1و2و3 و4 تزریق مت‌آمفتامین بوده است، دمای بدن هر موش اندازه گرفته شد(4).

مطالعه بافت‌شناسی

پس از انجام آزمایش‌های رفتاری، موش‌های آزمایشگاهی با اتر بیهوش گردیده و مغز آن ها از جمجمه خارج شد. مغزها به‌مدت 48 ساعت در فرمالین ثابت شده و مطابق روش‌های استاندارد بافت‌شناسی پردازش شده و بلوک‌های پارافینی برای مطالعات بافت‌شناسی آماده شدند. برای رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین از بلوک‌های پارافینی حاصل از آماده‌سازی بافت‌های مغز، برش‌های 5 میکرونی (2/8 میلی‌متر عقب‌تر از برگما) تهیه شد و سپس با استفاده از روش استاندارد بافت‌شناسی به طریقه هماتوکسیلین و ائوزین(22) رنگ آمیزی گردید.

مورفولوژی نورون‌ها و شکل هسته ملاک تشخیص سلامت یا آسیب آن‌ها قرار گرفت، به‌طوری که نورون‌های سالم واجد سیتوپلاسم صورتی روشن و هسته باز بودند؛ اما نورون‌های دژنره سلول‌هایی در نظر گرفته شد که سیتوپلاسمی قرمز تیره و هسته چروکیده داشتند. جهت شمارش سلولی از مقاطع یکسان و به تعداد 3 فیلد برای هر لام استفاده شد و پس از تعیین تعداد کل و تعداد نورون‌های دژنره درصد آسیب مشخص شد(23).

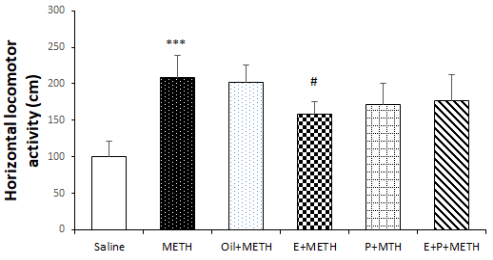
تجزیه و تحلیل داده ها

جهت محاسبات آماری از نرم افزار SPSS نسخه 18 استفاده شد. در ابتدا نرمال بودن داده ها از طریق آزمون توزیع نرمال Kolmogorov-*Smirnov* Test بررسی گردیده 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.

یافته‌ها

نتایج اثر هورمون‌های تخمدانی بر فعالیت حرکتی افقی به دنبال مصرف مت‌آمفتامین

نتایج آنالیز واریانس یک طرفه نشان می‌دهد که میزان فعالیت حرکتی افقی در گروهی که مت‌آمفتامین مصرف کرده بودند نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشته است (P <0/001). از طرف دیگر یافته‌ها نشان می‌دهد که تجویز استروژن به تنهایی توانست باعث کاهش فعالیت حرکتی به دنبال تزریق مت‌آمفتامین گردد (P <0/05). هرچند تجویز پروژسترون و نیز تجویز توأمان استروژن و پروژسترون اثر معنی‌داری روی فعالیت حرکتی نداشتند (نمودار شماره 1).



نمودار شماره 1: مقایسه فعالیت حرکتی افقی در بین گروه‌های استروژن+ مت‌آمفتامین، پروژسترون+ مت‌آمفتامین، استروژن+ پروژسترون+ مت‌آمفتامین، حلال+ مت‌آمفتامین.

*** : P<0/001 در مقایسه با گروه سالین

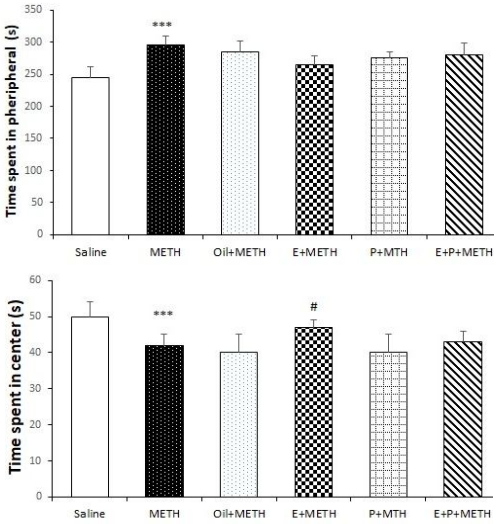
: P<0/05 در مقایسه با گروه حلال + مت‌آمفتامین

نتایج اثر هورمون‌های تخمدانی بر رفتار های شبه اضطرابی به دنبال مصرف مت‌آمفتامین

یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد که مدت زمان حضور در مرکز در تست جعبه باز در گروهی که مت‌آمفتامین دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت(P <0/001). همچنین

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-15]

مدت زمان حضور در محیط در تست جعبه باز در گروهی که مت‌آمفتامین دریافت کرده بودند نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت(P <0/001). نتایج آماری نشان می‌دهد که تجویز استروژن بطور معنی‌داری باعث افزایش حضور درمرکز وکاهش حضور در محیط در تست جعبه باز به‌دنبال مصرف مت‌آمفتامین شد (P <0/05). تجویز پروژسترون به تنهایی و توأمان با استروژن اثر معنی‌داری روی مدت زمان حضور در محیط و یا مرکز در تست جعبه باز به دنبال تجویز مت‌آمفتامین نداشت (نمودار شماره 2).



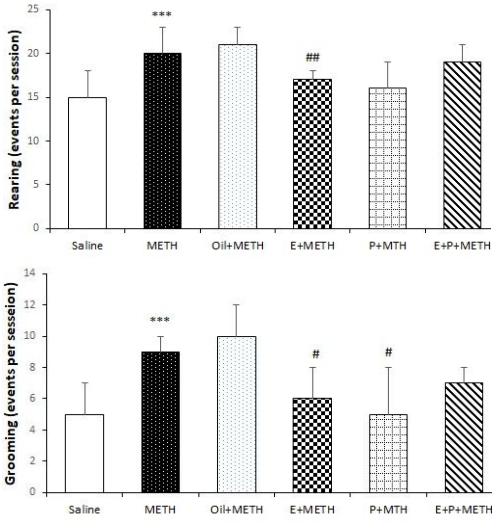
نمودار شماره2: مقایسه رفتارهای شبه اضطرابی در بین گروه‌های استروژن+ مت‌آمفتامین، پروژسترون+ مت‌آمفتامین، استروژن+ پروژسترون+ مت‌آمفتامین، حلال+ مت‌آمفتامین.

*** : P<0/001 در مقایسه با گروه سالین

: P<0/05 در مقایسه با گروه حلال + مت‌آمفتامین

نتایج اثر هورمون‌های تخمدانی بر فعالیت حرکتی عمودی به دنبال مصرف مت‌آمفتامین

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که فعالیت حرکتی عمودی شامل Rearing و Grooming در گروهی که مت‌آمفتامین دریافت کرده بود، افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت. از طرف دیگر گروهی که استروژن دریافت کرده بودند میزان فعالیت حرکتی Rearing کاهش معنی‌داری نسبت به گروهی که حلال دریافت کرده بود به دنبال مصرف مت‌آمفتامین نشان داد. هرچند در گروه‌هایی که پروژسترون دریافت کرده بودند تنها میزان گرومینگ تفاوت معنی‌داری با گروهی که حلال دریافت کرده بودند نشان داد (P <0/05). یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری در گروهی که استروژن و پروژسترون بصورت توأمان دریافت کرده بودند وجود نداشت (نمودار شماره 3).



نمودار شماره 3: مقایسه فعالیت حرکتی عمودی و گرومینگ در بین گروه‌های استروژن+ مت‌آمفتامین، پروژسترون+ مت‌آمفتامین، استروژن+پروژسترون+ مت‌آمفتامین، حلال+ مت‌آمفتامین.

*** : P<0/001 در مقایسه با گروه سالین

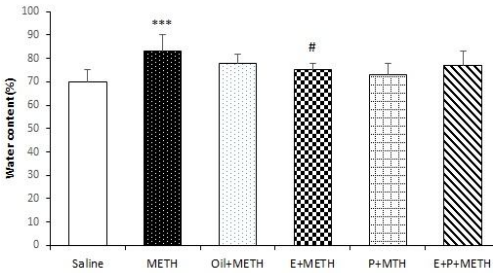
: P<0/05 در مقایسه با گروه حلال + مت‌آمفتامین

نتایج اثر هورمون‌های تخمدانی بر ادم مغزی به دنبال مصرف مت‌آمفتامین

محتوای آب بافتی مغز به عنوان شاخص ادم مغزی در نظر گرفته شد. آنالیز آماری نشان داد که ادم مغزی در گروهی که مت‌آمفتامین دریافت کرده بود افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت. از طرف دیگر در این مطالعه تنها در گروهی که استروژن دریافت کرده بودند میزان محتوای آب بافتی مغزکاهش معنی‌داری نسبت به گروهی که حلال دریافت کرده بود به دنبال مصرف

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-15]

مت‌آمفتامین نشان داد (P <0/05). اما در سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (نمودار شماره 4).



نمودار شماره 4: مقایسه محتوای آب بافتی مغز در بین گروه‌های استروژن+ مت‌آمفتامین، پروژسترون+ مت‌آمفتامین، استروژن+ پروژسترون+ مت‌آمفتامین، حلال+ مت‌آمفتامین.

*** : P<0/001 در مقایسه با گروه سالین

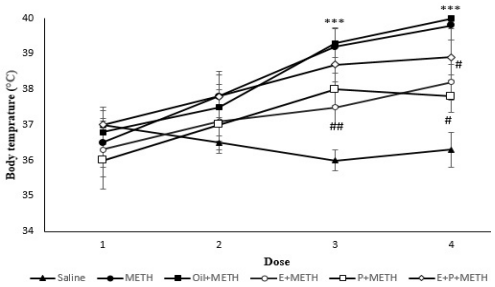
: P<0/05 در مقایسه با گروه حلال + مت‌آمفتامین

نتایج اثر هورمون‌های تخمدانی بر درجه حرارت بدن به دنبال مصرف مت‌آمفتامین

آنالیز آماری نشان می‌دهد که درجه حرارت بدن در گروهی که مت‌آمفتامین دریافت کرده بود، در دوزهای 3 و 4 افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت. از طرف دیگر در این مطالعه در گروهی که استروژن دریافت کرده بود ، در دوزهای 3 و 4 میزان درجه حرارت کاهش معنی‌داری نسبت به گروهی که حلال دریافت کرده بود به دنبال مصرف مت‌آمفتامین نشان داد (P <0/05)، اما در سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (نمودار شماره 5).

نتایج اثر هورمون‌های تخمدانی بر مرگ نورونی در ناحیه CA1 هیپوکمپ

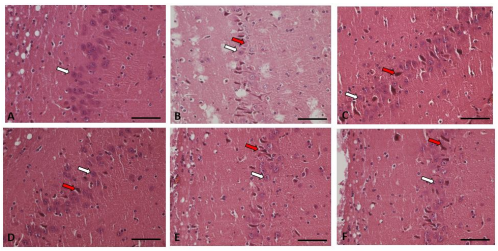
یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد که مرگ نورونی در ناحیه CA1 هیپوکمپ در گروهی که مت‌آمفتامین دریافت کرده بود، افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت. از طرف دیگر در این مطالعه در گروهی که استروژن دریافت کرده بود، مرگ نورونی کاهش معنی‌داری نسبت به گروهی که حلال دریافت کرده بود به دنبال مصرف مت‌آمفتامین نشان داد (P <0/05)، اما در سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (تصویر شماره 2 و نمودار شماره 6).



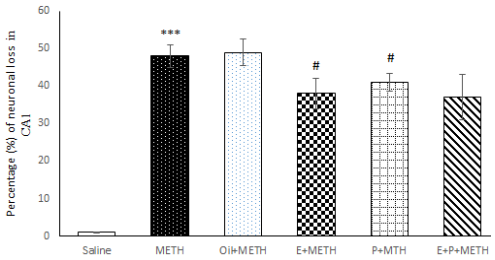
نمودار شماره 5: مقایسه درجه حرارت بدن در بین گروه‌های استروژن+ مت‌آمفتامین، پروژسترون+ مت‌آمفتامین، استروژن+ پروژسترون+ مت‌آمفتامین ،حلال+ مت‌آمفتامین.

*** : P<0/001 در مقایسه با گروه سالین

: P<0/01 و # : P<0/05 در مقایسه با گروه حلال + مت‌آمفتامین



تصویر شماره 2: تصویر سلول های نکروز شده در ناحیه CA1 بین گروه‌های درمانی(N=4). A: درگروه کنترل،B: درگروه مت‌آمفتامین، C: درگروه حلال + مت‌آمفتامین، D: درگروه استروژن+ مت‌آمفتامین، E: در گروه پروژسترون+ مت‌آمفتامین، F: در گروه استروژن+ پروژسترون+ مت‌آمفتامین می باشد. فلش‌های سفید نشان دهنده سلول‌های سالم و فلش قرمز نشان دهنده سلول‌هایی است که نکروز شده‌اند. (Scale bars = 50 µm).



نمودار شماره 6: مقایسه در صد نورون‌های نکروز شده در ناحیه CA1 در بین گروه‌های درمانی.

*** : P<0/001 در مقایسه با گروه سالین

: P<0/05 در مقایسه با گروه حلال + مت‌آمفتامین

نتایج بصورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شده است.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-15]

بحث

مطالعه حاضر جهت بررسی اثرات احتمالی استروژن و پروژسترون روی اختلالات رفتاری، ادم مغزی، دمای بدن القا شده توسط مت‌آمفتامین در موش‌های اواریکتومی‌شده طراحی شد. یافته‌های این مطالعه نشان داد که مت‌آمفتامین باعث افزایش رفتارهای شبه اضطرابی، ادم مغزی و درجه حرارت بدن می‌گردد. همچنین در موش‌هایی که مت‌آمفتامین دریافت کرده بودند تعداد سلول‌های دچار مرگ نورونی افزایش چشمگیری نسبت به گروه سالین داشت. از طرف دیگر تجویز هورمون‌های تخمدانی بخصوص استروژن باعث بهبود شاخص‌های رفتار اضطرابی، ادم مغزی و درجه حرارت بدن در موش‌هایی که مت‌آمفتامین دریافت کرده بودند، شد. در مقابل، مصرف توأمان استروژن و پروژسترون اثر معنی‌داری بر روی شاخص‌های رفتار اضطرابی، ادم مغزی و درجه حرارت بدن در موش‌هایی که مت‌آمفتامین دریافت کرده بودند، نداشته است.

نتایج رفتاری این مطالعه نشان داد که تزریق دوز (6mg/kg) مت‌آمفتامین باعث بروز رفتارهای شبه اضطرابی می‌شود که موافق با سایر تحقیقات انجام شده در زمینه اثرات دوز توکسیک مت‌آمفتامین بر روی اختلالات رفتاری و شبه اضطرابی است(26-24). در این زمینه Sturntz و همکاران(25) مشاهده کردند که تزریق دوز (4mg/kg) مت‌آمفتامین بصورت زیر جلدی در روش چهار تزریق در یک روز، منجر به افزایش فعالیت حرکتی و نیز رفتارهای شبه اضطرابی می‌گردد. از سویی دیگر قزوینی و همکاران(15،14) نشان داده‌اند که تجویز مت‌آمفتامین (6mg/kg) منجر به اختلال یادگیری و حافظه فضایی در مار آبی موریس می‌شود و نیز اختلال Long Term Potentiation (LTP) به عنوان مدل الکتروفیزیولوژیک تقویت طولانی مدت ایجاد می‌گردد. همچنین در این مطالعه نشان داده شده است که تجویز استروژن و پروژسترون باعث بهبود اختلال حافظه و یادگیری بدنبال تجویز مت‌آمفتامین می‌گردد. همچنین در مطالعات اخیر مشخص شده است که ارتباط قوی بین کارایی سیناپسی و عملکرد در ناحیه CA1 هیپوکمپ و شاخص‌های اضطرابی وجود دارد(27).

در این زمینه Hori و همکاران(28) مشاهده کردند که تجویز مکرر مت‌آمفتامین منجر به نقص شناختی در مسیر کولترال شافر به CA1 در موش‌های نر در مقایسه با گروه کنترل می‌شود. در همین راستا مشاهدات حاکی از آن است که تجویز رژیم نوروتوکسیک مت‌آمفتامین منجر به تغییرات مورفولوژیک در طیفی از تغییرات از دژنراسیون نورونی تا آسیب سد خونی مغزی می‌شود(32-29). در مطالعه حاضر نیز یافته‌ها نشان می‌دهد که مت‌آمفتامین منجر به مرگ نورونی در ناحیه CA1 هیپوکمپ می‌گردد. لذا از آن‌جایی‌که هیپوکمپ به شدت به نوروتوکسیسیته ناشی از مت‌آمفتامین حساس است و با توجه به ارتباط قوی بین نوروتوکسیسته مت‌آمفتامین و مرگ نورونی با رفتارهای شبه اضطرابی به نظر می رسد مرگ نورونی ناحیه CA1 هیپوکمپ در ارتباط با شاخص‌های اضطرابی باشد. در همین زمینه مطالعات اخیر حاکی از آن است که تجویز رژیم نوروتوکسیک مت‌آمفتامین منجر به فعالیت گلیاها و متعاقبا افزایش تولید سایتوکین‌های التهابی می‌شود که به عنوان شاخص مهم بیماری‌های نورودژنراتیو محسوب می‌شود. بعلاوه در مطالعه حاضر یافته‌ها حاکی از آن است که تجویز استروژن و پروژسترون منجر به کاهش مرگ نورونی در ناحیه CA1 هیپوکمپ می‌گردد. با توجه اهمیت سلول‌های هیپوکمپ در بروز رفتارهای شبه اضطرابی، کاهش مرگ نورونی می‌تواند مرتبط با بهبود عملکردهای شناختی بدنبال تجویز استروژن و پروژسترون باشد. در همین زمینه مطالعات گسترده حاکی از نقش آنتی‌اکسیدانی و نوروپروتکتیوی هورمون‌های تخمدانی به‌خصوص استروژن دارد. یافته‌های اخیر نشان می‌دهد که استروژن و پروژسترون باعث کاهش مرگ نورونی در نورون‌های هیپوکمپ و

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-15]

نیز بهبود رفتارهای شبه اضطرابی می‌گردد(37-33). مکانیسم‌های دقیق اثرگذاری هورمون‌های تخمدانی بر روی عملکردهای شناختی مشخص نیست اما مطالعات قبلی نشان می‌دهد که استروژن اثرات خود را از طریق اثر بر روی پلاستیسیته سیناپسی، بازسازی دندریت‌ها و سیناپس‌ها، سیناپتوژنز و نیز افزایش نوروژنز اعمال می‌کند(40-38).

نتایج مطالعه حاضر حاکی از آن است که تزریق دوز توکسیک مت‌آمفتامین منجر به افزایش درجه حرارت بدن و نیز ادم مغزی می‌گردد. همانطور که مطالعات اخیر نیز نشان داده است که تزریق دوز توکسیک مت‌آمفتامین باعث افزایش درجه حرارت وادم مغزی می‌گردد(41،4). به عنوان مثال، خلیفه و همکاران مشاهده کردند که در رت‌های نژاد ویستار تزریق دوز چهارم مت‌آمفتامین (6mg/kg) منجر به افزایش معنی‌دار درجه حرارت در مقایسه با گروه کنترل می‌شود. در مطالعه حاضر تزریق استروژن و پروژسترون منجر به کاهش درجه حرارت و نیز ادم مغزی شد. هرچند تزریق توأمان استروژن و پروژسترون اثر معنی‌داری روی این دو شاخص بدنبال تجویز مت‌آمفتامین نداشت. در همین زمینه مطالعات نشان می‌دهد که تجویز استروژن و پروژسترون باعث کاهش ادم مغزی بدنبال آسیب سیستم عصبی مرکزی می‌گردد. در مطالعه‌ای تجویز استروژن (1mg/kg) و پروژسترون (8mg/kg) به دنبال ضربه مغزی در مدل حیوانی موش صحرایی منجر به کاهش ادم مغزی شد. نکته قابل توجه در این مطالعات این است که بر خلاف یافته‌های مطالعه حاضر تجویز توأمان استروژن به‌علاوه پروژسترون باعث کاهش ادم مغزی گردید(17،16). این تفاوت‌ها بین مطالعات پیش رو با سایر گزارش‌ها می‌تواند به علت فاکتورهای مختلفی باشد. اثرات سودمند درمان با استروژن و/یا پروژسترون می‌تواند به نوع مدل بیماری، دوز، سن و همچنین تا حدی با مدت زمان و نحوه درمان با این هورمون‌ها مرتبط باشد.

هرچند مکانیسم‌های دقیق اثرات هورمون‌های تخمدانی به‌خصوص استروژن و پروژسترون در کاهش ادم مغزی و درجه حرارت بدن و مرگ نورونی مشخص نیست اما این هورمون‌ها می‌توانند با روش‌های کاهش روندهای التهابی و مرگ نورونی اثرات نوروپروتکتیو خود را در کاهش ادم مغزی اعمال نمایند. یکی از علت‌های سمیت عصبی متعاقب مصرف مت‌آمفتامین افزایش کلسیم داخل سلولی است. افزایش کلسیم داخل سلولی باعث سمیت سلولی شده و مرگ نورونی را در پی دارد . در این زمینه مشخص شده است که استروژن در برقراری تعادل کلسیم داخل سلولی نقش مهمی دارد و لذا از این طریق نیز می‌تواند از مرگ سلولی جلوگیری کند. همچنین استروژن از طریق افزایش بیان پروتئین‌های ضد آپوپتوزی مانند آپوپتوزی نظیر Bcl-xl، bcl-2 باعث محافظت نورونی شود.

در مجموع، در این مطالعه نشان داده شد که تجویز دوز توکسیک مت‌آمفتامین منجر به اختلال رفتاری و بروز رفتارهای شبه اضطرابی و نیز افزایش درجه حرارت بدن، ادم مغزی و مرگ سلولی نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکمپ می‌گردد. همچنین در این مطالعه مشاهده شد که هورمون‌های تخمدانی بخصوص استروژن تا حدودی باعث کاهش شاخص‌های رفتار اضطرابی، ادم مغزی، درجه حرارت بدن در موش‌هایی که مت‌آمفتامین دریافت کرده بودند، می‌گردد.

References

1. Cruickshank CC, Dyer KR. A review of the clinical pharmacology of methamphetamine. Addiction 2009; 104(7): 1085-1099.
2. Davidson C, Gow AJ, Lee TH, Ellinwood EH. Methamphetamine neurotoxicity: necrotic and apoptotic mechanisms and relevance to

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-15]

human abuse and treatment. Brain Res Brain Res Rev 2001; 36(1): 1-22.

3. Glasner-Edwards S, Mooney LJ, Marinelli-Casey P, Hillhouse M, Ang A, Rawson R, et al. Anxiety disorders among methamphetamine dependent adults: Association with post-treatment functioning. Am J Addict 2010; 19(5): 385-390.
4. 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 Medical Journal 2019; 8: e1182.
5. Shahveisi K, Khazaie H, Farnia V, Khodamoradi M. REM sleep deprivation impairs retrieval, but not reconsolidation, of methamphetamine reward memory in male rats. Pharmacology Biochemistry and Behavior 2019;185: 172759 (Persian).
6. Brann DW, Dhandapani K, Wakade C, Mahesh VB, Khan MM. Neurotrophic and neuroprotective actions of estrogen: basic mechanisms and clinical implications. Steroids 2007;72(5): 381-405.
7. Stein DG. Progesterone exerts neuroprotective effects after brain injury. Brain Res Rev 2008; 57(2): 386-397.
8. Cordellini MF, Piazzetta G, Pinto KC, Delattre AM, Matheussi F, Carolino RO, et al. Effect of different doses of estrogen on the nigrostriatal dopaminergic system in two 6-hydroxydopamine-induced lesion models of Parkinson's disease. Neurochem Res 2011; 36(6): 955-961.
9. Bruce M. Estrogen Actions Throughout the Brain. Recent Prog Horm Res 2002; 57: 357-384.
10. Fernandez SM, Lewis MC, Pechenino AS, Harburger LL, Orr PT, Gresack JE, et al. Estradiol-induced enhancement of object memory consolidation involves hippocampal extracellular signal-regulated kinase activation and membrane-bound estrogen receptors. J Neurosci 2008; 28(35): 8660-8667.
11. Craig MC, Brammer M, Maki PM, Fletcher PC, Daly EM, Rymer J, et al. The interactive effect of acute ovarian suppression and the cholinergic system on visuospatial working memory in young women. Psychoneuroendocrinology 2010; 35(7): 987-1000.
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): 415-426.
13. Gibbs RB. Long-term treatment with estrogen and progesterone enhances acquisition of a spatial memory task by ovariectomized aged rats. Neurobiol Aging 2000; 21(1): 107-116.
14. 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. Neuroscience Lett 2016; 619: 60-67.
15. 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): 145-156.
16. 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. Iranian Journal of Basic Medical Sciences 2015; 18(2): 138-144 (Persian).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-15]

17. Soltani Z, Khaksari M, Shahrokhi N, Nakhaei N, Shaibani V. Effect of combined administration of estrogen and progesterone on brain edema and neurological outcome after traumatic brain injury in female rats. Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism 2009; 10(6): 629-638 (Persian).
18. Goss CW, Hoffman SW, Stein DG. Behavioral effects and anatomic correlates after brain injury: a progesterone dose-response study. Pharmacol Biochem Behav 2003; 76(2): 231-242.
19. Shear DA, Galani R, Hoffman SW, Stein DG. Progesterone protects against necrotic damage and behavioral abnormalities caused by traumatic brain injury. Exp Neurol 2002; 178(1): 59-67.
20. Antoniou K, Papathanasiou G, Panagis G, Nomikos G, Hyphantis T, Papadopoulou Daifoti Z. Individual responses to novelty predict qualitative differences in d-amphetamine-induced open field but not reward-related behaviors in rats. Neuroscience 2004; 123(3): 613-623.
21. Ranjbar H, Aghaei I, Moosazadeh M, Shabani M. Angiotensin II type 1 receptor blocker losartan attenuates locomotor, anxiety-like behavior, and passive avoidance learning deficits in a sub-chronic stress model. Iran J Basic Med Sci 2018; 21(8): 856-862 (Persian).
22. Shakouri E, Zareh F, Majd A, Ahmad, Haghigh Hassanali Deh H. Effect of Rotational Speed of Drill Bit on Surface Defects with H&E Stain in Bone Drilling (An Animal Study). Iranian Journal of Orthpaedic Surgery 2016; 14(1): 16-23 (Persian).
23. Khodamoradi M, Ghazvini H, Esmaeili Mahani S, Shahveisi K, Farnia V, Zhaleh H, et al. Genistein attenuates seizure-induced hippocampal brain-derived neurotrophic factor overexpression in ovariectomized rats. Journal of Chemical Neuroanatomy 2018; 89: 43-50 (Persian).
24. Schutová B, Hrubá L, Pometlová M, Rokyta R, Šlamberová R. Responsiveness to methamphetamine in adulthood is altered by prenatal exposure in rats. Physiology & Behavior 2010; 99(3): 381-387.
25. 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.
26. Arakawa O. Effects of methamphetamine and methylphenidate on single and paired rat open-field behaviors. Physiol Behav 1994; 55(3): 441-446.
27. Bannerman DM, Sprengel R, Sanderson DJ, McHugh SB, Rawlins JNP, Monyer H, etal. Hippocampal synaptic plasticity, spatial memory and anxiety. Nat Rev Neurosci 2014; 15(3): 181-192.
28. Hori N, Kadota MT, Watanabe M, Ito Y, Akaike N, Carpenter DO. Neurotoxic effects of methamphetamine on rat hippocampus pyramidal neurons. Cellular and Molecular Neurobiology 2010; 30(6): 849-856.
29. Schmued LC, Bowyer JF. Methamphetamine exposure can produce neuronal degeneration in mouse hippocampal remnants. Brain Res 1997; 759(1): 135-140.
30. Dawirs RR, Teuchert Noodt G, Busse M. Single doses of methamphetamine cause changes in the density of dendritic spines in the prefrontal cortex of gerbils (Meriones unguiculatus). Neuropharmacology 1991; 30(3): 275-282.
31. Williams MT, Brown RW, Vorhees CV. Neonatal methamphetamine administration

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-15]

induces region□specific long□term neuronal morphological changes in the rat hippocampus, nucleus accumbens and parietal cortex. Eur J Neurosci 2004; 19(12): 3165-3170.

32. Sharma HS, Kiyatkin EA. Rapid morphological brain abnormalities during acute methamphetamine intoxication in the rat: an experimental study using light and electron microscopy. J Chem Neuroanat 2009; 37(1): 18-32.
33. 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.
34. 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.
35. Jover T, Tanaka H, Calderone A, Oguro K, Bennett MVL, Etgen AM, 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.
36. 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.
37. Reddy DS, O'Malley BW, Rogawski MA. Anxiolytic activity of progesterone in progesterone receptor knockout mice. Neuropharmacology 2005; 48(1): 14-24.
38. McEwen BS, Alves SE, Bulloch K, Weiland NG. Ovarian steroids and the brain implications for cognition and aging. Neurology 1997; 48(5 Suppl 7): 8S-15S.
39. 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): 2550-2559.
40. McEwen B, Akama K, Alves SE, Brake WG, Bulloch K, Lee S, et al. Tracking the estrogen receptor in neurons: implications for estrogen-induced synapse formation. Proceedings of the National Academy of Sciences 2001; 98(13): 7093-7100.
41. Camarasa J, Rodrigo T, Pubill D, Escubedo E. Memantine is a useful drug to prevent the spatial and non-spatial memory deficits induced by methamphetamine in rats. Pharmacol Res 2010; 62(5): 450-456.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2025-07-15]