

اثر یادگیری لمسی بر غلظت سرمی IL-17 در موش صحرایی نر

سوده رجبی (MSc)^۱، غلامحسین حسن شاهی (PhD)^۲، محمد کاظمی عرب آبادی (PhD)^۳، علی روحبخش (PhD)^۱

بهزاد نصیری (BSc)^۱، علی شمسی زاده (PhD)^{۱*}

- ۱- مرکز تحقیقات فیزیولوژی-فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
- ۲- مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
- ۳- مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

دریافت: ۹۰/۲/۸، اصلاح: ۹۰/۴/۸، پذیرش: ۹۰/۶/۱۶

خلاصه

سابقه و هدف: اینترلوکین ۱۷ یک سیتوکین پیش التهابی (pro-inflammatory) است که در سلول های مختلفی از جمله نورون های حسی و حرکتی در قشر مغز و توسط هیپوکمپ و نخاع نیز بیان می شود. از آنجائیکه بنظر می رسد سیستم ایمنی و بخصوص سیتوکین ها در تعدیل فعالیت مغز نقش دارند و با توجه به بیان IL-17 در نورون های حسی، این مطالعه به منظور اندازه گیری تغییرات غلظت پلاسمایی این سیتوکین قبل و بعد از القای یادگیری لمسی در موش صحرایی انجام شد تا نقش احتمالی این سیتوکین در پدیده یادگیری لمسی بررسی گردد.

مواد و روشها: در این مطالعه تجربی از ۲۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار سفید در محدوده وزنی ۱۶۰ تا ۲۰۰ گرم استفاده شد. یادگیری حسی با کمک روش تشخیص شی جدید (بر مبنای میل طبیعی حیوان به لمس شی جدید در مقابل شی آشنا) انجام شد. یک هفته قبل از انجام یادگیری لمسی و همچنین بلافاصله بعد از انجام یادگیری از موش ها خونگیری بعمل آمد تا تغییر سطح سرمی IL-17 قبل و بعد از یادگیری بررسی شود. نمونه خون از گوشه داخلی چشم موش ها توسط لوله میوئین جمع آوری شد و پس از جداسازی سرم غلظت IL-17 با تکنیک الایزا (ELISA) بررسی شد.

یافته ها: میانگین غلظت پلاسمایی IL-17 یک هفته قبل از انجام یادگیری لمسی $594/4 \pm 71/6$ پیکوگرم بر میلی لیتر بود که بعد از انجام یادگیری $210 \pm 56/5$ پیکوگرم بر میلی لیتر شد. سطح سرمی این سیتوکین در موش های صحرایی بعد از انجام یادگیری لمسی که با استفاده از تست تشخیص شی جدید انجام شد، کاهش معنی داری را نشان داد ($p < 0/05$).

نتیجه گیری: نتیجه مطالعه نشان داد که اینترلوکین ۱۷ (IL-17) ممکن است در تنظیم اعمال برتر مغز نظیر یادگیری موثر باشد.

واژه های کلیدی: اینترلوکین ۱۷، یادگیری لمسی، موش صحرایی، تست تشخیص شی جدید.

مقدمه

این سیتوکین در مغز وجود دارد و بیشتر مطالعات قبلی به عملکرد پیش التهابی این سیتوکین توجه داشته اند (۸-۶). با توجه به اینکه این سیتوکین در نورون ها نیز بیان می شود تصور می شود که عملکرد های مختلفی را داشته باشد. بعضی از سیتوکین های پیش برنده التهاب در فرآیند یادگیری در مغز دخیلند. در این راستا گزارش های اخیر نشان داده که IL-8 (جزو سیتوکین های پیشبرنده التهاب است) باعث مهار (Long Term Potentiation, LTP) در هیپوکمپ می شود (۹). همچنین گزارش شده که تزریق داخل بطنی IL-1β (جزو

مطالعات جدید نشان می دهند که سیستم های ایمنی، هورمونی و نورترانسمیتر ها یک شبکه پیچیده ای را تشکیل می دهند که نقش مهمی را در کنترل رفتار و اعمال شناختی برعهده دارند (۱). اینترلوکین ۱۷ یک سیتوکین پیش التهابی (pro-inflammatory) است که در سلول های مختلفی از جمله لنفوسیت ها و سلول های میکروگلیا بیان می شود (۴-۲). اخیرا نشان داده شد که IL-17 بطور عمده بوسیله نورون های حسی و حرکتی در قشر مغز و توسط هیپوکمپ و نخاع نیز بیان می شود (۵). شواهد اندکی در مورد اثر زیستی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی به شماره ۹۰۰۳۰ دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان می باشد.

*مسئول مقاله:

(ساخت کمپانی Nuldos) انجام شد. تست در سه فاز با فاصله زمانی ۲۴ ساعت بین هر فاز انجام شد. در روز اول به منظور آشنایی به موش اجازه داده شد تا آزادانه به مدت نیم ساعت جعبه را بدون هیچ شیء لمس کند. در روز بعد در فاز یادگیری (T1 یا training) ۲ شیء یکسان در جعبه گذاشته شد و موش به مدت ۵ دقیقه آنها را لمس کرد. شکل و جای اشیاء برای هر موش متفاوت بود. در روز تست یک شیء از مرحله قبل همراه با یک شیء جدید در جعبه گذاشته شد و موش به مدت ۵ دقیقه آنها را لمس میکرد. به منظور حذف اثرات بویایی کف جعبه و اشیاء با اتانول ۷۰ درصد تمیز شد (۲۳ و ۲۲). مدت زمانی که برای لمس هر شیء صرف می شد و همچنین کل زمان لمس دو شیء محاسبه گردید. لمس یک شیء براساس قرارگیری بینی در فاصله کمتر یا مساوی ۲ سانتیمتر از شیء تعریف می شود. بالا رفتن یا نشستن روی شیء در محاسبات قرار نمیگردد (۲۴). موش هایی که در آنها کل زمان لمس کمتر از ۱۰ ثانیه بود حذف شدند (۲۵). شاخص تمایل (Preference Index) برای لمس شیء بر مبنای زمان های لمس شیء در فاز T2 بدست آمد (درصدی از کل زمان لمس اشیاء که صرف لمس شیء جدید می شود). داده ها با استفاده از آزمون paired T-Test تجزیه و تحلیل و $P < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

فعالیت حرکتی (Activity level): فعالیت حرکتی موش ها با اندازه گیری مسافت طی شده در طول فاز T1 و فاز T2 بررسی شد. مقایسه مسافت طی شده در فاز T1 (۱۶۶۷/۸±۲۱۴/۳) سانتیمتر) و فاز T2 (۱۴۰۰/۷±۱۴۲/۲) سانتیمتر) اختلاف معنی داری را نشان نداد ($t_{(5)} = 1/8, P = 0/11$) (Paired t-test).

فاز یادگیری یا T1: میانگین مدت زمان کلی که صرف لمس دو شیء یکسان در فاز T1 شد $56/7 \pm 9/5$ ثانیه و فرکانس (تعداد دفعات) لمس اشیاء نیز در طول فاز T1 $77 \pm 9/2$ بود.

فاز تست یا T2: میانگین کل زمان لمس دو شیء (شیء آشنا و شیء جدید) $45/1 \pm 6/9$ ثانیه و میانگین مدت زمانی که صرف لمس شیء جدید در فاز T2 می شود $27/6 \pm 4$ ثانیه بود. شاخص تمایل که درصد لمس شیء جدید به کل زمان لمس شد به میزان $63/2 \pm 5/9$ درصد بود (جدول ۱).

جدول ۱. اندازه گیری فرکانس و مدت زمان لمس اشیاء در فازهای T1 و T2 در تست تشخیص شیء جدید.

فاز	فرکانس و مدت زمان لمس	Mean±SD
فاز T1	مدت زمان کل لمس دو شیء آشنا	۵۶/۷۴±۹/۵
	فرکانس لمس دو شیء	۷۷±۹/۲
فاز T2	مدت زمان لمس شیء آشنا	۱۷/۵±۳/۸
	مدت زمان لمس شیء جدید	۲۷/۶±۴
	مدت زمان کل	۴۵/۱±۶/۹
	فرکانس لمس شیء آشنا	۲۵/۵±۴/۴
فاز T2	فرکانس لمس شیء جدید	۴۰/۱±۶/۹
	فرکانس لمس هر دو شیء	۶۵/۶±۶/۴
	شاخص تمایل	۶۳/۲±۵/۹

T1 فاز یادگیری، T2 فاز تست

سیتوکین های پیشبرنده التهاب است) منجر به اختلال در یادگیری فضایی در موش می شود (۱۰). قشر حسی پیکری یکی از نواحی با ظرفیت عملکردی بالا در مغز است در این ناحیه اطلاعات حسی آنالیز و پردازش می شود. این فرآیند سبب درک آگاهانه از محرک های حسی می شود. همچنین به دلیل ارتباط این ناحیه با نواحی دیگر مغز نظیر استریاتوم و قشر حرکتی امکان طراحی، اجرا و تنظیم دینامیک حرکات هماهنگ فراهم می شود (۱۱ و ۱۲). یکی از ویژگیهای های قشر، شکل پذیری یا پلاستیسیته وابسته به تجربه است. این توانایی امکان تغییر عملکرد قشر را در نتیجه کسب تجربه فراهم می سازد بنابراین ما می توانیم کارهای جدید را یاد بگیریم، حوادث گذشته را به خاطر آوریم و اشیاء را تشخیص دهیم (۱۳). مکانیسم ها و عوامل موثر بر یادگیری در مغز بطور دقیق شناسایی نشده اند. مطالعات قبلی عمدتاً به بررسی نقش سیستم های نوروترانسمیتر (۱۷) - (۱۴) و تغییرات ساختاری احتمالی دخیل در یادگیری در مغز متمرکز شده اند (۱۳). نتایج مطالعات اخیر بر نقش سیستم ایمنی و بخصوص سیتوکین ها در تعدیل فعالیت های عالی مغز دلالت دارند. با توجه به بیان IL-17 در نرون های حسی مغز، در این مطالعه بر آن شدیم تا با اندازه گیری تغییرات غلظت پلاسمایی این سیتوکین قبل و بعد از القای یادگیری لمسی در موش صحرایی به بررسی نقش احتمالی این سیتوکین در پدیده یادگیری لمسی بپردازیم.

مواد و روشها

حیوانات: در این مطالعه تجربی پس از تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان از ۲۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار سفید در محدوده وزنی ۱۶۰ تا ۲۰۰ گرم استفاده شد. موش ها در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و حرارت 21 ± 1 درجه سانتیگراد نگهداری شدند. دسترسی به آب و غذا آزاد بود.

نحوه جمع آوری نمونه خون: خون از گوشه داخلی چشم موشها توسط لوله موئین جمع آوری شد (۱۸). خونگیری طی دو مرحله یعنی یک هفته قبل از شروع تست (به عنوان گروه کنترل) و نیز بعد از انجام فاز T2 در تست تشخیص شیء جدید انجام شد. سپس نمونه خونی بمنظور جدا کردن سرم بمدت ۵ دقیقه در سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰ و دمای ۶ درجه سانتیگراد قرار گرفت. سرم جدا شده بلافاصله در دمای -20 درجه سانتیگراد تا زمان اندازه گیری غلظت IL-17 فریز شد (۱۹). اندازه گیری غلظت IL-17 با تکنیک الایزا (ELISA) و با آنتی بادی و استانداردهای شرکت eBioscience انجام شد (۲۰ و ۲۱). سنجش ها طبق دستورالعمل های کارخانه سازنده انجام شد و جذب بوسیله دستگاه خواننده در طول موج ۴۵۰ نانومتر خوانده شد. جذب با استفاده از نرم افزار اکسل و به وسیله منحنی استاندارد به غلظت (pg/ml) تبدیل شد. حساسیت کیت ۲pg/ml بود.

تست تشخیص شیء جدید: یادگیری حسی با کمک روش تشخیص شیء جدید (بر مبنای میل طبیعی حیوان به لمس شیء جدید در مقابل شیء آشنا) بررسی شد. این روش با استفاده از یک جعبه پلکسی گلاس به ابعاد $35 \times 35 \times 35$ سانتیمتر در اتاق تاریک انجام شد. در کف جعبه یک پلاستیک مشکی قرار گرفت و از دو شیء فلزی مربع و مثلث بعنوان اشیاء جدید و آشنا استفاده شد. در بالای جعبه یک دوربین رفتار حیوان را ضبط می کرد و آنالیز رفتاری با نرم افزار Ethovision

قادر به تنظیم برخی از اعمال سیستم اعصاب مرکزی باشد که برای اثبات این فرضیه مطالعات بیشتری نیاز است. نتایج حاصل از مطالعات اخیر بر نقش روزافزون سیستم ایمنی خصوصا سیتوکین ها در تنظیم بعضی از اعمال برتر مغز نظیر یادگیری و شناخت دلالت می کند. گزارش شده است که $IL-1\beta$ حافظه هایی که مربوط به عملکرد هیپوکمپ است را تخریب می کند (۱۰ و ۱). $IL-10$ (که یک سیتوکین ضد التهابی است) باعث ایجاد اختلال های رفتاری و همچنین اختلال یادگیری در موش صحرایی می شود بطوریکه تزریق این سیتوکین باعث افزایش رفتار های اضطرابی در موش ها می شود (۳۱). در مطالعه ای Xiong و همکارانش گزارش کردند که اضافه کردن $IL8$ به سلول های هیپوکمپ در محیط برون تنی (Invitro) باعث مهار LTP (long term potentiation) در این سلول ها می شود (۹). نتایج مطالعه ما نیز نشان داد که متعاقب القای یادگیری حسی غلظت پلاسمایی این سیتوکین در پلازما کاهش می یابد که این امر باز بر نقش اینترلوکین ها خصوصا $IL-17$ در تنظیم اعمال برتر مغز نظیر یادگیری دلالت می کند. اطلاعاتی وجود دارد مبنی بر اینکه استرس باعث تغییر غلظت پلاسمایی $IL-17$ می شود (۳۳ و ۳۲). تست تشخیص شی جدید برخلاف بسیاری دیگر از روش های ارزیابی یادگیری و حافظه که با نوعی هیجان یا شوک همراه هستند بر اساس تمایل طبیعی حیوان به لمس شی جدید است و کمتر تحت تاثیر عوامل فوق است.

نتیجه این مطالعه مشخص می کند که اینترلوکین $IL-17$ ممکن است در تنظیم اعمال برتر مغز نظیر یادگیری موثر باشد. پیشنهاد می شود که در مطالعات آینده با استفاده از آگونیست و آنتاگونیست های این سیتوکین ($IL-17$) نقش آن در پدیده یادگیری بیشتر بررسی شود. همچنین میتوان با اندازه گیری محتوی $IL-17$ در نوروون های بخش های مختلف مغز فهم بهتری از نقش این ماده در اعمال برتر مغز مثل یادگیری بدست آورد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از حمایت مالی مرکز تحقیقات فیزیولوژی- فارماکولوژی و همچنین معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان تشکر و قدردانی می گردد.

سطح سرمی $IL-17$: میانگین غلظت $IL-17$ اندازه گیری شده در نمونه های قبل از انجام تست (گروه کنترل) $523/3 \pm 74/4$ پیکوگرم بر میلی لیتر بود. بعد از انجام تست میانگین غلظت $IL-17$ $268/2 \pm 41/7$ پیکوگرم بر میلی لیتر شد که کاهش معنی داری را نسبت به نمونه های قبل از انجام تست نشان داد ($t(14) = 2/7, p = 0/01$). (Paired t-test)

بحث و نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که متعاقب القای یادگیری لمسی با استفاده از تست تشخیص شی جدید، غلظت پلاسمایی $IL-17$ در موش های صحرایی کاهش یافت که این امر میتواند فرضیه نقش احتمالی این سیتوکین در یادگیری لمسی را مطرح کند.

$IL-17$ جزو سیتوکین های پیشبرنده التهاب است. ایزوفرم های متعددی از رسپتور های این سیتوکین در نواحی مختلف بدن شناسایی شده است. این امر پیشنهاد می کند که اعمال $IL-17$ می تواند متنوع و پیچیده باشد. بطوریکه گزارش شده است این سیتوکین در بیماری های التهابی نظیر آسم، سرطان پروستات و اختلالات التهابی مفاصل افزایش پیدا می کند (۳). ایزوفرم هایی از این سیتوکین در نواحی مختلف مغز (هیپوکمپ، مخچه قشری) و نخاع شناسایی شده است (۵). درباره اعمال این سیتوکین در مغز گزارش های اندکی وجود دارد. بیشتر مطالعات در زمینه اعمال التهابی این سیتوکین بحث نموده اند. مدارک فراوانی دال بر نقش $IL-17$ در التهاب نوروونی ایجاد شده در بیماری مولتیپل اسکلروزیس وجود دارد (۲۸-۲۶). همچنین مقادیر افزایش یافته این سیتوکین در التهاب ایجاد شده متعاقب ایسکمی مغزی و انسفالومیلیت گزارش شده است (۳۰ و ۲۹).

مطالعات اخیر نشان می دهد که این سایتوکین در یک واکنش متقابل با مولکولهای گیرنده شبه Toll (Toll like receptors (TLRs)) موجب افزایش بیان یکدیگر می شوند (۱۵). از طرفی نقش مهم TLRها در تولید و رشد نوروونها، شناخت (Cognition) و بیماریهای همراه با تخریب نوروونها مثل آلزایمر و مولتیپل اسکلروزیس به خوبی مشخص شده است (۱۶). بنابراین به نظر می رسد که $IL-17$ شاید به طور غیر مستقیم و با اثر بر میزان بیان TLRs

Effect of Tactile Learning on Serum Levels of IL-17 in Male Rats

S. Rajabi (MSc)¹, Gh. Hassanshahi (PhD)², M. Kazemi Arababadi (PhD)³, A. Roohbakhsh (PhD)¹, B. Nasiri (BSc)¹, A. Shamsizadeh (PhD)^{1*}

1. Physiology-Pharmacology Research Center, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran
2. Molecular-Medicine Research Center, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran
3. Infectious and Tropical Diseases Research Center, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

J Babol Univ Med Sci; 14(3); May 2012; pp: 25-30.

Received: Apr 28th 2010, Revised: Jun 29th 2011, Accepted: Sep 7th 2011.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Interleukin-17 is a pro-inflammatory cytokine secreted by different cells including sensory and motor neurons in the cerebral cortex, hippocampus and spinal cord. As it seems that immune system and cytokines can modulate the brain functions and as IL-17 is expressed by sensory neurons, in this study we investigate the possible role of IL-17 in modulating tactile learning by measuring plasma levels of IL-17 before and after induction of tactile learning.

METHODS: In this study, 20 male Wistar rats weighing 160-200gr were used. Tactile learning was induced by novel object recognition test (NORT) (based on natural tendency of animal to explore novel objects more than familiar objects). One week before and immediately after the NORT, blood samples were collected to measure the changes in IL-17 concentration before and after learning. Blood was taken from inner canthus of rats' eyes and serum levels of IL-17 were measured using ELISA.

FINDINGS: The mean plasma concentrations of IL-17 one week before and immediately after the NORT were 594.4±71.6 and 210±56.5 pg/ml, respectively. The serum level of IL-17 was significantly decreased following induction of tactile learning ($p<0.05$).

CONCLUSION: The result of this study showed that, IL-17 may be has a role in modulating higher brain functions such as learning and memory.

KEY WORDS: *Interleukin-17, Tactile learning, Rat, Novel object recognition test.*

*Corresponding Author;

Address: Physiology-Pharmacology Research Centre, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran, P.O.Box:77175-835, Post Code: 7719617996

Tel: +98 391 5234003

E-mail: ashamsi@rums.ac.ir

References

1. Maier SF, Watkins LR. Cytokines for psychologists: implications of bidirectional immune-to-brain communication for understanding behavior, mood, and cognition. *Psychol Rev* 1998;105(1):83-107.
2. Albanesi C, Cavani A, Girolomoni G. IL-17 is produced by nickel-specific T lymphocytes and regulates ICAM-1 expression and chemokine production in human keratinocytes: synergistic or antagonist effects with IFN-gamma and TNF-alpha. *J Immunol* 1999;162(1):494-502.
3. Moseley TA, Haudenschild DR, Rose L, Reddi AH. Interleukin-17 family and IL-17 receptors. *Cytokine Growth Factor Rev* 2003;14(2):155-74.
4. Melzer N, Meuth SG, Torres-Salazar D, et al. A beta-lactam antibiotic dampens excitotoxic inflammatory CNS damage in a mouse model of multiple sclerosis. *PLoS One* 2008;3(9):e3149.
5. Moore EE, Presnell S, Garrigues U, et al. Expression of IL-17B in neurons and evaluation of its possible role in the chromosome 5q-linked form of Charcot-Marie-Tooth disease. *Neuromuscul Disord* 2002;12(2):141-50.
6. Li GZ, Zhong D, Yang LM, et al. Expression of interleukin-17 in ischemic brain tissue. *Scand J Immunol* 2005;62(5):481-6.
7. Lv M, Liu Y, Zhang J, et al. Roles of inflammation response in microglia cell through Toll-like receptors 2/interleukin-23/interleukin-17 pathway in cerebral ischemia/reperfusion injury. *Neuroscience* 2011;176:162-72.
8. Zhang Z, Zhang ZY, Fauser U, Schluesener HJ. Valproic acid attenuates inflammation in experimental autoimmune neuritis. *Cell Mol Life Sci* 2008;65(24):4055-65.
9. Xiong H, Boyle J, Winkelbauer M, et al. Inhibition of long-term potentiation by interleukin-8: implications for human immunodeficiency virus-1-associated dementia. *J Neurosci Res* 2003;71(4):600-7.
10. Gibertini M, Newton C, Friedman H, Klein TW. Spatial learning impairment in mice infected with *Legionella pneumophila* or administered exogenous interleukin-1-beta. *Brain Behav Immun* 1995;9(2):113-28.
11. Ferezou I, Haiss F, Gentet LJ, Aronoff R, Weber B, Petersen CC. Spatiotemporal dynamics of cortical sensorimotor integration in behaving mice. *Neuron* 2007;56(5):907-23.
12. Johansson RS, Cole KJ. Sensory-motor coordination during grasping and manipulative actions. *Curr Opin Neurobiol* 1992;2(6):815-23.
13. Fox K. Anatomical pathways and molecular mechanisms for plasticity in the barrel cortex. *Neuroscience* 2002;111(4):799-814.
14. Cadet JL, Jayanthi S, McCoy MT, Beauvais G, Cai NS. Dopamine D1 receptors, regulation of gene expression in the brain, and neurodegeneration. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2010;9(5):526-38.
15. Codony X, Vela JM, Ramirez MJ. 5-HT(6) receptor and cognition. *Curr Opin Pharmacol* 2011;11(1):94-100.
16. Lovinger DM. Neurotransmitter roles in synaptic modulation, plasticity and learning in the dorsal striatum. *Neuropharmacology* 2010;58(7):951-61.
17. Simonyi A, Schachtman TR, Christoffersen GR. Metabotropic glutamate receptor subtype 5 antagonism in learning and memory. *Eur J Pharmacol* 2010;639(1-3):17-25.
18. van Herck H, Baumans V, Brandt CJ, et al. Orbital sinus blood sampling in rats as performed by different animal technicians: the influence of technique and expertise. *Lab Anim* 1998;32(4):377-86.
19. Arababadi M, Pourfathollah AA, Jafarzadeh A, Hassanshahi G. Serum levels of Interleukin (IL)-10 and IL-17A in occult HBV infected south-east Iranian patients. *Hepat Mon* 2010;10(1):31-5.
20. Maliji G, Sadeghi M, HajiAhmadi M, Mosavikani SE, Karimi AA. Comparison of serum level of interleukin (il)-10 and interleukin (il)-12 human brucellosis in cattle owners and health controls. *J Babol Univ Med Sci* 2008;10(3):30-4. [in Persian]

21. Arababadi M, Mousavi R, Khorramdelazed H, et al. Cytokine patterns after therapy with Avonex (R), Rebif (R), Betaferon (R) and CinnoVex in relapsing-remitting multiple sclerosis in Iranian patients. *Biomark Med* 2010;4(5):755-9.
22. Aisa B, Tordera R, Lasheras B, Del Rio J, Ramirez MJ. Cognitive impairment associated to HPA axis hyperactivity after maternal separation in rats. *Psychoneuroendocrinology* 2007;32(3):256-66.
23. Chuhan YS, Taukulis HK. Impairment of single-trial memory formation by oral methylphenidate in the rat. *Neurobiol Learn Mem* 2006;85(2):125-31.
24. Chopin P, Colpaert FC, Marien M. Effects of acute and subchronic administration of dexefaroxan, an alpha(2)-adrenoceptor antagonist, on memory performance in young adult and aged rodents. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 301(1):187-96.
25. Roozendaal B, Okuda S, Van der Zee EA, McGaugh JL. Glucocorticoid enhancement of memory requires arousal-induced noradrenergic activation in the basolateral amygdala. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103(17):6741-6.
26. Murphy AC, Lalor SJ, Lynch MA, Mills KH. Infiltration of Th1 and Th17 cells and activation of microglia in the CNS during the course of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain Behav Immun* 2009;24(4):641-51.
27. Jadidi-Niaragh F, Mirshafiey A. Th17 cell, the new player of neuroinflammatory process in multiple sclerosis. *Scand J Immunol* 2011;74(1):1-13.
28. Juszczak M, Glabinski A. Th17 cells in the pathogenesis of multiple sclerosis. *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 2009;63:492-501.
29. Konoeda F, Shichita T, Yoshida H, Sugiyama Y, Muto G, Hasegawa E, et al. Therapeutic effect of IL-12/23 and their signaling pathway blockade on brain ischemia model. *Biochem Biophys Res Commun* 2010;402(3):500-6.
30. Juncadella IJ, Bates TC, Suleiman R, et al. The tick saliva immunosuppressor, Salp15, contributes to Th17-induced pathology during Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *Biochem Biophys Res Commun* 201;402(1):105-9.
31. Harvey D, Smith R, English K, Mahon B, Commins S. Interleukin-10 (IL-10) but not Lipopolysaccharide (LPS) produces increased motor activity and abnormal exploratory patterns while impairing spatial learning in Balb/c mice. *Physiol Behav* 2006;87(5):842-7.
32. Vanaudenaerde BM, Wuyts WA, Geudens N, et al. Macrolides inhibit IL17-induced IL8 and 8-isoprostane release from human airway smooth muscle cells. *Am J Transplant* 2007;7(1):76-82.
33. Pinkerton MN, Wescott DC, Gaffey BJ, Beggs KT, Milne TJ, Meikle MC. Cultured human periodontal ligament cells constitutively express multiple osteotropic cytokines and growth factors, several of which are responsive to mechanical deformation. *J Periodontal Res* 2008;43(3):343-51.