

اثر مصرف طولانی مدت تاموکسیفن بر حافظه موش صحرایی

دکتر معصومه اصل روستا*^۱

۱- مربی، گروه زیست شناسی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: تاموکسیفن یکی از تعدیل‌کنندگان انتخابی گیرنده استروژن است که اثر استروژنی / آنتی‌استروژنی در بافت‌های مختلف بدن دارد. این مطالعه به منظور تعیین اثر مصرف طولانی مدت تاموکسیفن بر حافظه موش‌های صحرایی انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۴۸ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به سه گروه کنترل، شام و تجربی تقسیم شدند. گروه شام حلال تاموکسیفن دریافت نمود و گروه تجربی تاموکسیفن (40 mg/kg/day) را به مدت ۳۵ روز متوالی به صورت خوراکی دریافت کرد. در پایان تیمار، یادگیری و حافظه فضایی حیوانات با استفاده از ماز آبی موریس و حافظه اجتنابی با استفاده از شاتل باکس ارزیابی شد.

یافته‌ها: مدت زمان و مسافت سپری شده برای دست‌یابی به سکوی پنهان در آزمون ماز آبی موریس در حیوانات دریافت‌کننده تاموکسیفن افزایش معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل نشان داد ($P < 0/05$). به علاوه زمان و مسافت شنا شده در ربع دایره هدف (در آزمون پروب) در حیوانات گروه تاموکسیفن کاهش معنی‌داری داشت ($P < 0/05$). در آزمون حافظه اجتنابی، تاموکسیفن موجب کاهش معنی‌داری در زمان ورود حیوان به اتاق تاریک در مقایسه با گروه کنترل گردید ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: تیمار طولانی مدت تاموکسیفن موجب اختلال در یادگیری و حافظه فضایی و همچنین کاهش حافظه اجتنابی در موش‌های صحرایی نر می‌گردد.

کلیدواژه‌ها: تاموکسیفن، یادگیری، حافظه فضایی، حافظه اجتنابی، موش صحرایی

* نویسنده مسؤول: دکتر معصومه اصل روستا، پست الکترونیکی mrousta@iauz.ac.ir

نشانی: زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان، گروه زیست شناسی، تلفن: ۰۲۴-۳۳۴۲۱۰۳۰، نمابر ۳۳۴۶۱۲۲۱
وصول مقاله: ۱۳۹۳/۹/۱۵، اصلاح نهایی: ۱۳۹۴/۲/۲۷، پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۲/۳۰

مقدمه

استروژن‌ها در شکل‌گیری حافظه به اثبات رسیده است. به طوری که کاهش استروژن در دوران منوپوز، خطر ابتلا به بیماری آلزایمر را افزایش می‌دهد (۸ و ۷).

اهمیت استروژن در شکل‌گیری حافظه به اندازه‌ای است که بهترین عملکرد موش‌های صحرایی ماده در ماز آبی موریس به دوره استروس آنان تعلق دارد (۹) و تیمار استروژن موجب بهبود حافظه فضایی موش‌های اواریکتومی می‌گردد (۱۰). همچنین حافظه فضایی موش‌های صحرایی ماده پیری که با دریافت استروژن در یک وضعیت استروس مداوم قرار گرفتند؛ در مقایسه با نرهای پیر بهبود می‌یابد (۱۱). اواریکتومی نمودن موش‌های صحرایی ماده، موجب بروز رفتارهای شبه اضطرابی و افسردگی می‌شود و تزریق تاموکسیفن به حیوانات سالم نیز همین اثر را به جای می‌گذارد. بنابراین نتیجه‌گیری شده تاموکسیفن (به عنوان یک آنتی‌استروژن) می‌تواند اثر ضد اضطرابی و ضد افسردگی هورمون‌های تخمدانی را آنتاگونیست نماید (۱۲). تغییرات غلظت استروژن حتی در انسان نیز اثرات قابل توجهی بر حافظه به جای می‌گذارد. به طوری که تغییر

تاموکسیفن (Nolvadex) یک داروی خوراکی است که برای درمان سرطان پستان به کار می‌رود (۱). این دارو اثرات مفیدی در درمان سرطان کبد، پانکراس، ژینکوماستی و اولیگوپرمی مردان و همچنین رشد عضلانی در بدنسازی دارد. تاموکسیفن یکی از اعضای تنظیم‌کنندگان اختصاصی گیرنده استروژن است که با القای تغییرات ساختاری در گیرنده مذکور، بر میان‌کنش گیرنده استروژن با پروتئین‌های تنظیمی اثر می‌گذارد. این دارو بنا بر محیط اثر، اثرات آگونیستی یا آنتاگونیستی را بر گیرنده استروژن اعمال می‌کند (۴-۲). به عنوان مثال، تاموکسیفن با استفاده از اثر آنتی‌استروژنیک می‌تواند در درمان سرطان پستان مؤثر باشد (۵).

به نظر می‌رسد استروژن‌ها محدوده وسیعی از اثرات را در مغز اعمال می‌نمایند. زیرا گیرنده این هورمون‌ها به فراوانی در نواحی مختلف مغز بیان می‌شود. استروژن‌ها موجب محافظت عصبی در برابر آسیب‌های مغزی می‌شوند (۷ و ۶). اثرات محافظتی آنها در برابر ابتلا به بیماری آلزایمر، به اثبات رسیده است (۸). نقش

حیوانات به طور تصادفی به سه گروه ۱۶ تایی زیر تقسیم شدند. گروه کنترل: هیچ دارویی دریافت نکردند. گروه شم: حلال تاموکسیفن را به صورت گاوآژ دریافت نمودند. گروه تجربی: تاموکسیفن را به صورت گاوآژ دریافت کردند. تاموکسیفن (ایران هورمون-تهران) در دوز ۴۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم وزن بدن (دوز درمانی در انسان) مورد استفاده قرار گرفت. تاموکسیفن در ۰/۴ میلی لیتر حلال (۰/۰۵ میلی لیتر اتانل ۶۰ درصد و ۰/۳۵ میلی لیتر سرم فیزیولوژی) حل شد و به مدت ۳۵ روز متوالی به حیوانات خوراند شد (۱۸).

آزمون یادگیری و حافظه فضایی، برای بررسی یادگیری و آزمون ماز آبی موریس برای بررسی حافظه فضایی استفاده شد. این آزمون در روزهای ۳۵-۳۰ تیمار، برای آزمون یادگیری و حافظه فضایی حیوانات انجام شد. یک تانک مدور (به ارتفاع ۵۵ سانتی متر و قطر ۱۳۵ سانتی متر) محتوی آب تهیه شد. تانک به طور فرضی به چهار ربع دایره تقسیم شد و یک سکوی پنهان در شمال غربی تانک، یک سانتی متر زیر سطح آب قرار گرفت. علامت‌هایی نظیر چند عکس و تعدادی قفسه در اطراف تانک قرار داده شد و یک دوربین نیز در بالای تانک تعبیه گردید. در روز ۳۰ پس از شروع تیمار، هر حیوان به مدت ۱۲۰ ثانیه فرصت یافت تا در داخل تانک شنا نماید و با محیط آزمون سازش یابد.

چهار روز متوالی به یادگیری فضایی اختصاص داده شد. در هر روز، چهار دوره متوالی برای آموزش حیوان در نظر گرفته شد. در هر دوره، موش از یکی از چهار ربع دایره در داخل آب قرار گرفت و ۹۰ ثانیه فرصت داشت تا سکوی پنهان را بیابد و پس از یافتن سکو و یا در پایان ۹۰ ثانیه به حیوان اجازه داده شد تا به مدت ۲۰ ثانیه بر روی سکو بنشیند. مسافت طی شده (سانتی متر) و زمان سپری شده (ثانیه) تا رسیدن به سکوی پنهان، توسط کامپیوتری که به دوربین متصل بود؛ ثبت شد. در روز ۳۵ پس از شروع تیمار، سکوی پنهان برداشته و به حیوان اجازه داده شد تا ۶۰ ثانیه در داخل تانک شنا نماید و مسافت طی شده و زمان سپری شده در ربع دایره هدف (ربع دایره حاوی سکوی پنهان) ثبت گردید (۱۹).

آزمون یادگیری اجتنابی غیرفعال در روزهای ۳۵-۳۴ پس از شروع تیمار انجام شد. در این آزمون از شاتل باکس استفاده شد که جعبه‌ای متشکل از دو بخش تاریک و روشن است. میله‌های فولادی در کف بخش تیره قرار دارند و شوک الکتریکی را به کف پای حیوان منتقل می‌کنند. در این آزمون، حیوان یاد می‌گیرد برای دوری از شوک الکتریکی، تمایل ذاتی خود را برای رفتن به بخش تیره جعبه سرکوب کند.

روز ۳۴ پس از شروع تیمار، به آموزش اختصاص داده شد. قبل از آموزش، هر حیوان در بخش روشن قرار گرفت و پس از گذشت

سطح استروژن در مراحل مختلف زندگی زنان (نظیر بارداری، چرخه منس و منوپوز) موجب تغییر در سطح یادگیری آنان می‌شود (۱۳). هیپوکامپ در روند شکل‌گیری حافظه و همچنین رفتارهای هیجانی از اهمیت فراوانی برخوردار است. این ناحیه از مغز در بیماری آلزایمر دچار آسیب می‌شود و به تبع آن، حافظه (به‌خصوص حافظه فضایی) کاهش می‌یابد. هیپوکامپ به علت بیان گیرنده‌های استروژنی، تحت تأثیر این هورمون‌ها قرار می‌گیرد (۷). بیان گیرنده‌های غشایی (آلفا و بتا) استروژن در نورون‌های هیپوکامپ به اثبات رسیده است (۱۴). با توجه به اثر دوگانه تاموکسیفن بر گیرنده‌های استروژنیک و همچنین بیان فراوان این گیرنده‌ها در نواحی مختلف مغز، به‌خصوص در هیپوکامپ، به‌نظر می‌رسد تاموکسیفن بر شکل‌گیری حافظه اثر می‌گذارد. نتایج حاصل از یک مطالعه نشان داد حجم هیپوکامپ در زنان مسن مبتلا به سرطان پستان دریافت کننده تاموکسیفن، کمتر از زنان همسن سالمی است که تحت تیمار استروژن قرار می‌گیرند و حجم هیپوکامپ زنان مسن سالم که استروژن یا تاموکسیفن دریافت نمی‌کنند؛ حدوداً دو گروه فوق است (۱۵). همچنین حافظه کلامی مبتلایان به سرطان پستان که با تاموکسیفن معالجه می‌شوند؛ در مقایسه با افراد سالم کاهش می‌یابد (۱۶).

تاموکسیفن در جنس نر به عنوان درمان ژینکوماستی، اولیگواسپرمی و بدنسازی نیز کاربرد زیادی دارد (۴ و ۳) و تاکنون مطالعات اندکی در زمینه اثرات این دارو در جنس نر در مقایسه با ماده، صورت گرفته است. نتایج حاصل از یک تحقیق نشان داده یک تزریق تاموکسیفن به ناحیه CA1 هیپوکامپ به صورت دوطرفه، در حدود ۳۵-۳۰ دقیقه قبل از آزمون ماز آبی موریس، موجب بروز نقص حافظه در موش‌های صحرایی نر بالغ شد (۱۷).

دوره مصرف تاموکسیفن در موارد مختلف استفاده از این دارو، طولانی (از چندین هفته تا چند سال) است (۴ و ۱) و تاکنون مطالعه‌ای در زمینه اثرات احتمالی مصرف خوراکی طولانی‌مدت این دارو بر حافظه جنس نر انجام نگرفته است. لذا این مطالعه به منظور تعیین اثر مصرف طولانی مدت تاموکسیفن بر حافظه موش‌های صحرایی نر انجام شد.

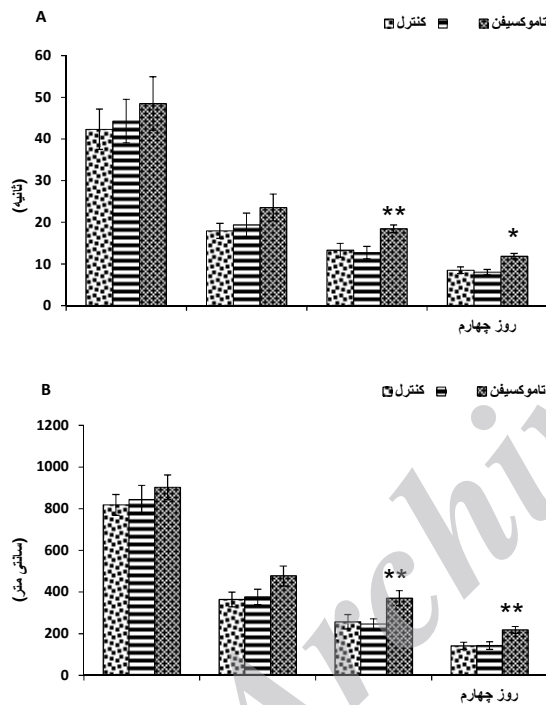
روش بررسی

در این مطالعه تجربی از ۴۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار در محدوده وزنی ۱۸۰ تا ۲۰۰ گرم خریداری شده از انستیتو پاستور ایران استفاده گردید. حیوانات به تعداد ۴ سر در هر قفس نگهداری شدند و آب و غذا را به سهولت در اختیار داشتند. دمای محیط نگهداری آنها 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شد. در این مطالعه، قوانین اخلاقی مربوط به نگهداری و کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید.

جدول ۱: ارزیابی روند یادگیری حیوانات در آزمون ماز آبی موریس بر طبق مقایسه مسافت شنا شده و زمان سپری شده برای دستیابی به سکوی پنهان در هر گروه

p-value	میانگین و انحراف معیار		p-value	میانگین و انحراف معیار		گروه
	مسافت شنا شده برای رسیدن به سکوی پنهان			زمان سپری شده برای رسیدن به سکوی پنهان		
	روز اول	روز چهارم		روز اول	روز چهارم	
۰/۰۰۱	۱۴۱/۸۲±۱۷/۷۱	۱۱۸/۲۹±۴۹/۳۵	۰/۰۰۱	۸/۵۲±۰/۷۸	۴۲/۳۴±۴/۸۵	کنترل
۰/۰۰۱	۱۴۳/۱۷±۱۹/۱۲	۸۴۲/۹۶±۶۸/۸۰	۰/۰۰۱	۸/۰۵±۰/۶۶	۴۴/۲۹±۵/۲۱	شم
۰/۰۰۱	۲۱۷/۹۲±۱۶/۶۲	۹۰۲/۲۹±۵۹/۳۸	۰/۰۰۱	۱۱/۸۸±۰/۶۳	۴۸/۴۹±۱/۴	تاموکسیفن

کننده تاموکسیفن، در روز سوم ($P < 0/05$) و روز چهارم ($P < 0/01$) آموزش، تفاوت آماری معنی داری با حیوانات گروه کنترل داشت (نمودار A-1). همچنین مسافت طی شده توسط گروه تاموکسیفن برای دستیابی به سکوی پنهان نیز در روزهای سوم و چهارم آموزش، کاهش آماری معنی داری در مقایسه با گروه کنترل نشان داد ($P < 0/05$) (نمودار B-1).



نمودار ۱: اثر تاموکسیفن بر یادگیری فضایی موش‌های صحرائی با استفاده از آزمون ماز آبی موریس
A: زمان سپری شده تا رسیدن به سکوی پنهان، B: مسافت طی شده تا رسیدن به سکوی پنهان
نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شده‌اند.
* $P < 0/01$ ، ** $P < 0/05$ در مقایسه با گروه کنترل ($n=10$)

نتایج آزمون پروب که در روز ۳۵ و با برداشته شدن سکوی پنهان انجام شد؛ نشان داد تفاوت آماری معنی داری در زمان طی شده و مسافت سپری شده در ربع دایره هدف توسط گروه شم در مقایسه با گروه کنترل وجود ندارد؛ اما حیوانات گروه تاموکسیفن، در مقایسه با گروه کنترل، زمان و مسافت کمتری را در ربع دایره هدف سپری کردند ($P < 0/01$) (نمودار ۲).

نتایج حاصل از بررسی حافظه اجتنابی (با استفاده از شاتل باکس)

۵ ثانیه، درب کشویی بین دو بخش روشن و تیره باز شد. موش براساس تمایل ذاتی خود به بخش تیره می‌رفت. پس از ورود به خانه سیاه، درب کشویی بسته و ۱۰ ثانیه به حیوان فرصت داده شد تا با محیط، آشنا گردد. هر حیوان ۳۰ دقیقه پس از آشنایی، در منطقه روشن دستگاه قرار داده شد. پس از ورود موش به منطقه تاریک (به دنبال باز شدن درب کشویی)، شوک الکتریکی به شدت یک میلی‌آمپر به مدت ۳ ثانیه دریافت نمود. ۲۰ ثانیه پس از پایان تحریک، حیوان از دستگاه خارج شد. پس از گذشت ۲ دقیقه، مجدداً حیوان در منطقه روشن قرار گرفت و در صورتی که پس از گذشت ۱۲۰ ثانیه به منطقه تیره نرفت؛ نشانه یادگیری بود. در غیر این صورت، مجدداً شوک دریافت نمود تا یادگیری صورت گیرد. روز ۳۵ (۲۴ ساعت پس از آموزش) به آزمون اختصاص داده شد. در این مرحله، ۵ ثانیه پس از قرارگیری موش در منطقه روشن، درب کشویی باز شد و زمان تأخیر برای ورود به منطقه تاریک (به عنوان معیار حافظه) ثبت شد. بیشترین زمان تأخیر (حافظه کامل)، ۳۰۰ ثانیه در نظر گرفته شد (۲۰).

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-18 و آزمون‌های ANOVA یک‌طرفه و Tukey HSD post hoc تجزیه و تحلیل شدند. نتایج به صورت میانگین و انحراف معیار بیان شدند. معنی داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

براساس نتایج حاصل از آزمون ماز آبی موریس، یادگیری و حافظه فضایی در موش‌هایی که تحت تیمار طولانی مدت تاموکسیفن قرار گرفتند؛ در مقایسه با حیوانات کنترل و شم کاهش معنی داری نشان داد ($P < 0/05$). نتایج حاصل از آزمون ماز آبی موریس در روزهای آموزش نشان داد در هر سه گروه، آموزش انجام شده است. مدت زمان سپری شده و مسافت شنا شده برای رسیدن به سکوی پنهان از روز اول تا چهارم آموزش در هر سه گروه، به طور پیش رونده‌ای کاهش یافت و تفاوت آماری معنی داری نشان داد (جدول ۱) ($P < 0/05$).

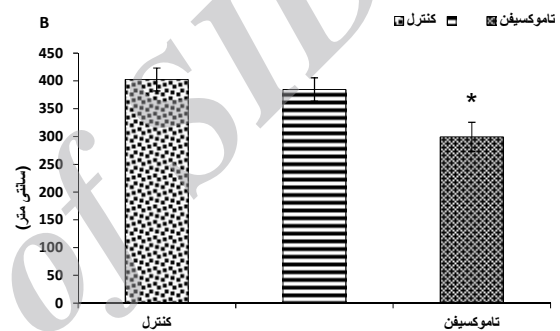
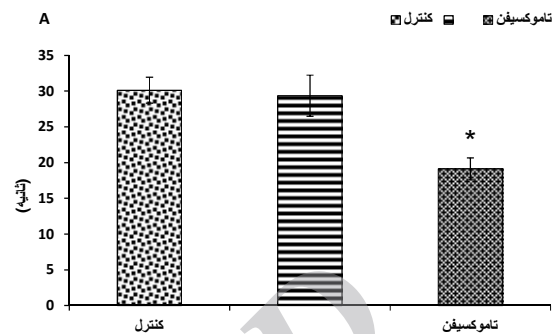
مدت زمان سپری شده و مسافت شنا شده برای رسیدن به سکوی پنهان در حیوانات گروه شم، در مقایسه با گروه کنترل تفاوت آماری معنی داری نشان نداد؛ اما زمان سپری شده در گروه دریافت

دهنده‌های عصبی و گیرنده‌های آنها، تشکیلات سیناپسی و الکتروفیزیولوژی سیناپس‌ها، بر تشکیل حافظه اثر می‌گذارند. تمامی این سطوح در بیماری آلزایمر، تحت تأثیر قرار می‌گیرند (۲۱). تولید نورواستروئیدها در هیپوکامپ به اثبات رسیده و این فرایند تحت تأثیر گلو تامات، تحریک و تنظیم می‌گردد (۲۲). گیرنده استروژن، موجب فعال‌سازی گیرنده متابوتروپیک گلو تامات در ناحیه هیپوکامپ پستی می‌شود (۲۳)؛ حتی سطح استروژن خون بر پلاستی سیتی سیناپسی و آزادسازی نوروترانس‌میترها در هیپوکامپ اثر دارند. استروژن می‌تواند تغییرات ایجاد شده در پلاستی سیتی سیناپسی بر اثر افزایش سن و استرس را تعدیل نماید (۲۴). همچنین کاهش تستوسترون در مردان بر اثر افزایش سن نیز می‌تواند موجب نقص حافظه در آنها گردد (۲۵). تستوسترون نیز با تحت تأثیر قرار دادن گیرنده غشایی استروژن در هیپوکامپ پستی، موجب تحریک شکل‌گیری حافظه می‌شود (۲۶). تستوسترون با فعال نمودن گیرنده‌های خود در ناحیه CA1 هیپوکامپ موجب حفظ دانسیته سیناپسی در این منطقه می‌شود (۲۷). از آنجایی که تستوسترون در مغز بر اثر فعالیت آنزیم آروماتاز به استرادیول تبدیل می‌شود؛ لذا کاهش تستوسترون بر اثر افزایش سن در مردان، بر غلظت استرادیول و در نتیجه بر سطح حافظه نیز اثر می‌گذارد (۲۸).

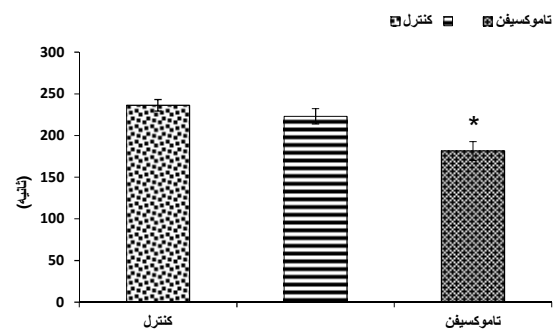
تاموکسیفن، تولید تستوسترون از پرگنولون را مهار نموده و در واقع موجب مهار استروئیدوژنز در چندین سطح می‌شود (۲۹). غلظت این هورمون در خون، بر اثر تیمار طولانی مدت تاموکسیفن کاهش می‌یابد (۱۸). به‌نظر می‌رسد کاهش تولید هورمون‌های استروئیدی توسط تاموکسیفن، یکی از دلایل بروز نقص حافظه در حیوانات است. از سویی ثابت شده تاموکسیفن به عنوان یک آنتی‌استروژن از القای خارهای دندریتی در نورون‌های پیرامیدال ناحیه CA1 هیپوکامپ در موش صحرایی جلوگیری می‌کند (۳۰). مصرف تاموکسیفن در زنان مسن، شواهدی از نقص حافظه را نشان داده است (۳۱).

استروژن‌ها موجب تحریک تقسیم سلول و مهار آپوپتوز می‌شوند (۳۲). همچنین تیمار آگونیست‌های گیرنده استروژن، نورون‌های هیپوکامپ را از آسیب القا شده توسط ایسکمی می‌رهاند (۳۳). نتایج حاصل از یک مطالعه نشان داد فعال‌سازی گیرنده‌های غشایی استروژن در نورون‌های هیپوکامپ، موجب بیان Bcl-2 می‌گردد و در حفاظت عصبی نقش دارد (۱۴). تاموکسیفن نیز به شیوه وابسته به دوز، موجب القای آپوپتوز و نکروز می‌شود (۳۴) و تعداد سلول‌ها را در *in vitro* کاهش می‌دهد (۳۵). آپوپتوز القا شده توسط تاموکسیفن به واسطه فعال شدن Caspase-3 است (۳۶). تاموکسیفن حتی در دوزهای بالاتر، به واسطه ایجاد استرس اکسیداتیو، منجر به آپوپتوز مستقل از گیرنده استروژن می‌گردد

نیز بیانگر کاهش حافظه اجتنابی در حیوانات دریافت‌کننده تاموکسیفن است. تأخیر در ورود به منطقه تاریک (محل شوک) بین دو گروه کنترل و شم، تفاوت بارزی نشان نداد؛ در حالی که در موش‌های دریافت‌کننده تاموکسیفن در مقایسه با موش‌های کنترل به‌طرز چشمگیری کاهش یافت ($P < 0.01$) (نمودار ۳).



نمودار ۲: اثر تاموکسیفن بر حافظه فضایی موش‌های صحرایی با استفاده از آزمون ماز آبی موریس
A: زمان سپری شده، B: مسافت طی شده در ربع دایره هدف
نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شده‌اند.
* $P < 0.01$ در مقایسه با گروه کنترل ($n=10$)



نمودار ۳: اثر تاموکسیفن بر حافظه اجتنابی موش‌های صحرایی با استفاده از شاتل باکس
نمودار، تأخیر در ورود به منطقه تاریک را نشان می‌دهد.
نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شده‌اند.
* $P < 0.01$ در مقایسه با گروه کنترل ($n=6$)

بحث

این مطالعه نشان داد که مصرف خوراکی تاموکسیفن به مدت طولانی، یادگیری و حافظه فضایی و همچنین حافظه اجتنابی را در موش‌های صحرایی نر بالغ کاهش می‌دهد. به‌نظر می‌رسد هورمون‌های جنسی به دلیل اثر بر سطح بیان انتقال

جنس باشد و در نظر گرفتن این موضوع در مطالعات بعدی، اطلاعات دقیق تری را ارائه خواهد نمود.

نتایج حاصل از چند تحقیق، حاکی از اثرات محافظتی تاموکسیفن (همانند استروژن) بر نورون‌ها در شرایط ایسکمی و آسیب نخاعی است که البته این اثرات محافظتی در شرایط فقدان استروژن (اواریکتومی شدن موش‌های صحرایی ماده) ظاهر می‌شود (۴۲ و ۴۳)؛ اما همان‌طور که ذکر شد اکثر مطالعات از اثرات آپوپتوتیک و مخرب تاموکسیفن حمایت می‌کنند.

مطالعه حاضر اثر تاموکسیفن را فقط از جنبه رفتاری بررسی نموده و انجام مطالعات دیگری شامل بررسی‌های مولکولی نظیر اثر تاموکسیفن بر سطح نورترنس‌میتراهای دخیل در فرایند شکل‌گیری حافظه، الکتروفیز یولوژیکی نظیر اثر دارو بر فعالیت سیناپس‌های گلو تاما ترژیک در هیپوکامپ و هیستولوژیکی نظیر ارزیابی مرگ نورونی در نواحی مختلف هیپوکامپ، ضروری به نظر می‌رسد. پیشنهاد می‌شود در تجویز داروی مذکور، دقت بیشتری به عمل آید.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که تیمار طولانی مدت تاموکسیفن موجب اختلال در یادگیری و حافظه فضایی و همچنین کاهش حافظه اجتنابی در موش‌های صحرایی نر می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح مصوب (شماره ۶/۹۱/۳۴۵۷) معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان بود. بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان به خاطر پشتیبانی مالی و فراهم نمودن امکانات لازم برای انجام این مطالعه و از جناب آقای علیرضا سعادت به خاطر همکاری در مراحل عملی تحقیق تشکر می‌گردد.

References

- Clemons M, Danson S, Howell A. Tamoxifen ("Nolvadex"): a review. *Cancer Treat Rev.* 2002 Aug; 28(4): 165-80.
- Smith CL, O'Malley BW. Coregulator function: a key to understanding tissue specificity of selective receptor modulators. *Endocr Rev.* 2004 Feb; 25(1): 45-71.
- Lewis JS, Jordan VC. Selective estrogen receptor modulators (SERMs): mechanisms of anticarcinogenesis and drug resistance. *Mutat Res.* 2005 Dec; 591(1-2): 247-63.
- Khan HN, Rampaul R, Blamey RW. Management of physiological gynaecomastia with tamoxifen. *Breast.* 2004 Feb; 13(1): 61-5.
- Mouridsen H, Giobbie-Hurder A, Goldhirsch A, Thürlimann B, Paridaens R, Smith I, et al. Letrozole therapy alone or in sequence with tamoxifen in women with breast cancer. *N Engl J Med.* 2009 Aug; 361(8): 766-76. doi: 10.1056/NEJMoa0810818
- Wise PM, Dubal DB, Wilson ME, Rau SW, Böttner M, Rosewell KL. Estradiol is a protective factor in the adult and aging brain: understanding of mechanisms derived from in vivo and in vitro studies. *Brain Res Brain Res Rev.* 2001 Nov; 37(1-3): 313-9.

- داروی مذکور با اثر آنتاگونیستی بر گیرنده استروژن، موجب افزایش بیان عوامل التهابی نظیر TNF- و IL-1 می‌شود (۳۸).
- افزایش عوامل التهابی یکی از عوامل منجر به اختلال حافظه است (۳۹). با توجه به بیان گیرنده‌های استروژن در مغز و به خصوص در هیپوکامپ، ممکن است تاموکسیفن با القای مرگ نورونی در هیپوکامپ، بر روند حافظه اثر گذارد. نتایج حاصل از یک مطالعه نشان داد که تزریق درون هیپوکامپی تاموکسیفن قبل از آزمون ماز آبی موریس، به سرعت موجب اختلال در فرایند یادگیری و حافظه در آزمون یک روزه ماز آبی موریس می‌شود (۱۷). با توجه به این که تاموکسیفن در دوره‌های طولانی مدت برای درمان سرطان پستان، تجویز می‌گردد و تاکنون اثرات مصرف طولانی مدت و خوراکی این دارو بر روی حافظه حیوانات انجام نشده است؛ نتایج حاصل از مطالعه حاضر می‌تواند این نقص اطلاعاتی را جبران نماید. با این حال توجه به این نکته ضروری است که دوزهای بالای تاموکسیفن در محیط کشت نورون موجب بروز مرگ سلولی می‌گردد؛ اما همین دوز در حضور پپتید بتا آمیلوئید که شاخصی برای آغاز شرایط بروز بیماری آلزایمر است؛ اثرات محافظتی را بر نورون اعمال می‌کند و مانع از بروز مرگ نورونی می‌گردد (۴۰). بنابراین اثر تاموکسیفن بر حافظه نیز احتمالاً در سنین مختلف متفاوت خواهد بود. زیرا تجمع بتا آمیلوئید و وقوع نقص حافظه ناشی از بیماری آلزایمر عمدتاً بر اثر افزایش سن بروز می‌یابد (۳۹).
- با توجه به این که تاموکسیفن یک استروژن/آنتی استروژن است و در حضور استروژن، اثر آنتی استروژنی خود را نشان می‌دهد (۲ و ۳) و مصرف این دارو نیز در زنان مبتلا به سرطان پستان که در سنین پیش از منوپوز قرار دارند؛ موجب بروز اختلالاتی در حافظه شده است (۴۱)؛ لذا احتمال دارد اثرات این دارو بر حافظه نیز وابسته به سن و

- Gillies GE, McArthur S. Independent influences of sex steroids of systemic and central origin in a rat model of Parkinson's disease: A contribution to sex-specific neuroprotection by estrogens. *Horm Behav.* 2010 Jan; 57(1): 23-34. doi: 10.1016/j.yhbeh.2009.06.002
- Craig MC, Murphy DG. Estrogen therapy and Alzheimer's dementia. *Ann N Y Acad Sci.* 2010 Sep; 1205: 245-53. doi: 10.1111/j.1749-6632.2010.05673.x
- Warren SG, Juraska JM. Spatial and nonspatial learning across the rat estrous cycle. *Behav Neurosci.* 1997 Apr; 111(2): 259-66.
- Markham JA, Pych JC, Juraska JM. Ovarian hormone replacement to aged ovariectomized female rats benefits acquisition of the morris water maze. *Horm Behav.* 2002 Nov; 42(3): 284-93.
- Warren SG, Juraska JM. Sex differences and estropausal phase effects on water maze performance in aged rats. *Neurobiol Learn Mem.* 2000 Nov; 74(3): 229-40.
- Azizi-Malekabadi H, Pourganji M, Zabihi H, Saeedjalali M, Hosseini M. Tamoxifen antagonizes the effects of ovarian hormones to induce anxiety and depression-like behavior in rats. *Arq Neuropsiquiatr.* 2015 Feb; 73(2): 132-9. doi: 10.1590/0004-

282X20140221

13. Shors TJ, Leuner B. Estrogen-mediated effects on depression and memory formation in females. *J Affect Disord.* 2003 Mar; 74(1): 85-96.

14. Zhao L, Wu TW, Brinton RD. Estrogen receptor subtypes alpha and beta contribute to neuroprotection and increased Bcl-2 expression in primary hippocampal neurons. *Brain Res.* 2004 Jun; 1010(1-2): 22-34.

15. Eberling JL, Wu C, Tong-Turnbeaugh R, Jagust WJ. Estrogen- and tamoxifen-associated effects on brain structure and function. *Neuroimage.* 2004 Jan; 21(1): 364-71.

16. Jenkins V, Shilling V, Fallowfield L, Howell A, Hutton S. Does hormone therapy for the treatment of breast cancer have a detrimental effect on memory and cognition? A pilot study. *Psychooncology.* 2004 Jan; 13(1): 61-6.

17. Talebi A, Naghdi N, Sepehri H, Rezayof A. The Role of Estrogen Receptors on Spatial Learning and Memory in CA1 Region of Adult Male Rat Hippocampus. *Iran J Pharm Res.* 2010; 9(2): 183-91.

18. Oryan S, Parivar K, Asl-roosta M. [Effect of tamoxifen on testosterone concentration and sperm count in adult male rats]. *Physiol Pharmacol.* 2008; 12(2): 136-41. [Article in Persian]

19. Asle-Rousta M, Oryan S, Ahmadiani A, Rahnama M. Activation of sphingosine 1-phosphate receptor-1 by SEW2871 improves cognitive function in Alzheimer's disease model rats. *EXCLI J.* 2013 Jun; 12: 449-61.

20. Taherianfard M, Sajedianfard J, Geramizadeh B, Jafari N, Haghghatjoo G, Hoseinnia F. [Effect of butylated hydroxytoluene on passive avoidance learning in male rats]. *Physiol Pharmacol.* 2012; 15(4): 538-544. [Article in Persian]

21. Gillies GE, McArthur S. Estrogen actions in the brain and the basis for differential action in men and women: a case for sex-specific medicines. *Pharmacol Rev.* 2010 Jun; 62(2): 155-98. doi: 10.1124/pr.109.002071

22. Kimoto T, Tsurugizawa T, Ohta Y, Makino J, Tamura Ho, Hojo Y, et al. Neurosteroid synthesis by cytochrome p450-containing systems localized in the rat brain hippocampal neurons: N-methyl-D-aspartate and calcium-dependent synthesis. *Endocrinology.* 2001 Aug; 142(8): 3578-89.

23. Boulware MI, Heisler JD, Frick KM. The memory-enhancing effects of hippocampal estrogen receptor activation involve metabotropic glutamate receptor signaling. *J Neurosci.* 2013 Sep; 33(38): 15184-94. doi: <http://dx.doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1716-13.2013>

24. Foy MR, Baudry M, Foy JG, Thompson RF. 17beta-estradiol modifies stress-induced and age-related changes in hippocampal synaptic plasticity. *Behav Neurosci.* 2008 Apr; 122(2): 301-9. doi: 10.1037/0735-7044.122.2.301

25. Pike CJ, Carroll JC, Rosario ER, Barron AM. Protective actions of sex steroid hormones in Alzheimer's disease. *Front Neuroendocrinol.* 2009 Jul; 30(2): 239-58. doi: 10.1016/j.yfrne.2009.04.015

26. Edinger KL, Frye CA. Androgens' effects to enhance learning may be mediated in part through actions at estrogen receptor-beta in the hippocampus. *Neurobiol Learn Mem.* 2007 Jan; 87(1):78-85.

27. Leranath C, Petnehazy O, MacLusky NJ. Gonadal hormones affect spine synaptic density in the CA1 hippocampal subfield of male rats. *J Neurosci.* 2003 Mar; 23(5): 1588-92.

28. Matousek RH, Sherwin BB. Sex steroid hormones and cognitive functioning in healthy, older men. *Hormones and*

Behavior. 2010 Mar; 57(3): 352-59. doi:10.1016/j.yhbeh.2010.01.004

29. Lin T, Muroso EP. Tamoxifen inhibits Leydig cell steroidogenesis: in vivo and in vitro studies. *Metabolism.* 1982 Jun; 31(6): 543-7.

30. McEwen BS, Tanapat P, Weiland NG. Inhibition of dendritic spine induction on hippocampal CA1 pyramidal neurons by a nonsteroidal estrogen antagonist in female rats. *Endocrinology.* 1999 Mar; 140(3): 1044-7.

31. Buwalda B, Schagen SB. Is basic research providing answers if adjuvant anti-estrogen treatment of breast cancer can induce cognitive impairment? *Life Sci.* 2013 Oct; 93(17): 581-8. doi: 10.1016/j.lfs.2012.12.012

32. Chen JR, Plotkin LI, Aguirre JI, Han L, Jilka RL, Kousteni S, et al. Transient versus sustained phosphorylation and nuclear accumulation of ERKs underlie anti-versus pro-apoptotic effects of estrogens. *J Biol Chem.* 2005 Feb; 280(6): 4632-8.

33. Lebesgue D, Chevaleyre V, Zukin RS, Etgen AM. Estradiol rescues neurons from global ischemia-induced cell death: multiple cellular pathways of neuroprotection. *Steroids.* 2009 Jul; 74(7): 555-61. doi: 10.1016/j.steroids.2009.01.003

34. Mandlekar S, Kong AN. Mechanisms of tamoxifen-induced apoptosis. *Apoptosis.* 2001 Dec; 6(6): 469-77.

35. Murphy LC, Sutherland RL. Differential effects of tamoxifen and analogs with nonbasic side chains on cell proliferation in vitro. *Endocrinology.* 1985 Mar; 116(3): 1071-8.

36. Mandlekar S, Yu R, Tan TH, Kong AN. Activation of caspase-3 and c-Jun NH2-terminal kinase-1 signaling pathways in tamoxifen-induced apoptosis of human breast cancer cells. *Cancer Res.* 2000 Nov; 60(21): 5995-6000.

37. Obrero M, Yu DV, Shapiro DJ. Estrogen receptor-dependent and estrogen receptor-independent pathways for tamoxifen and 4-hydroxytamoxifen-induced programmed cell death. *J Biol Chem.* 2002 Nov; 277(47): 45695-703.

38. Daosukho C, Kiningham K, Kasarskis EJ, Ittarat W, St Clair DK. Tamoxifen enhancement of TNF-alpha induced MnSOD expression: modulation of NF-kappaB dimerization. *Oncogene.* 2002 May; 21(22): 3603-10.

39. McGeer EG, McGeer PL. Neuroinflammation in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: a field in its infancy. *J Alzheimers Dis.* 2010; 19(1): 355-61. doi: 10.3233/JAD-2010-1219

40. O'Neill K, Chen S, Diaz Brinton R. Impact of the selective estrogen receptor modulator, tamoxifen, on neuronal outgrowth and survival following toxic insults associated with aging and Alzheimer's disease. *Exp Neurol.* 2004 Aug; 188(2): 268-78.

41. Palmer JL, Trotter T, Joy AA, Carlson LE. Cognitive effects of Tamoxifen in pre-menopausal women with breast cancer compared to healthy controls. *J Cancer Surviv.* 2008 Dec; 2(4): 275-82. doi: 10.1007/s11764-008-0070-1

42. Mehta SH, Dhandapani KM, De Sevilla LM, Webb RC, Mahesh VB, Brann DW. Tamoxifen, a selective estrogen receptor modulator, reduces ischemic damage caused by middle cerebral artery occlusion in the ovariectomized female rat. *Neuroendocrinology.* 2003 Jan; 77(1): 44-50.

43. Tian DS, Liu JL, Xie MJ, Zhan Y, Qu WS, Yu ZY, et al. Tamoxifen attenuates inflammatory-mediated damage and improves functional outcome after spinal cord injury in rats. *J Neurochem.* 2009 Jun; 109(6): 1658-67. doi: 10.1111/j.1471-4159.2009.06077.x

Original Paper

Effect of long term administration of tamoxifen on memory in male rat

Asle-Rousta M (Ph.D)*¹

¹Academic Instructor, Department of Biology, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.

Abstract

Background and Objective: Tamoxifen is one of the selective estrogen receptor modulators that exerts estrogen / anti-estrogen effects in various tissues. This study was done to evaluate the effect of chronic administration of tamoxifen on spatial memory and passive avoidance task in adult male Wistar rats.

Methods: In this experimental study, 48 adult male Wistar rats were randomly divided into control, sham and tamoxifen groups. Animals in sham and tamoxifen groups were received tamoxifen solution and tamoxifen (400mg/kg/day) orally for 35 consecutive days. At the end of treatment, spatial learning and memory of animals was assessed using the Morris water maze task and passive avoidance memory was examined using the shuttle box.

Results: The time spent and distance moved to reach the platform, significantly increased in tamoxifen group compared to controls ($P<0.05$). In addition, the time spent and distance moved in the target quadrant (in the probe test) significantly reduced in tamoxifen group in compared to controls ($P<0.05$). In passive avoidance task, tamoxifen significantly decreased the time of the entrance to the dark room compared to control animals ($P<0.05$).

Conclusion: Long-term administration of tamoxifen impairs spatial learning and memory and passive avoidance memory in rats.

Keywords: Tamoxifen, Spatial learning, Spatial memory, Avoidance memory, Rat

* Corresponding Author: Asle-Rousta M (Ph.D), E-mail: mrousta@iauz.ac.ir

Received 6 Dec 2014

Revised 17 May 2015

Accepted 20 May 2015