



Original Paper

Influence of Estrous Cycle Hormonal Fluctuations and Gonadal Hormones on Neurogenesis in the Subventricular Zone of Adult Mice

Mandana Emamdust (M.Sc)¹ , Mohammad Taghi Ghorbanian (Ph.D)² , Fariba Banaian (B.A)³ 

¹ M.Sc in Developmental Biology, Department of Cellular and Molecular Biology, School of Biology, Damghan University, Damghan, Iran. ² Associate Professor, Department of Cellular and Molecular Biology, School of Biology, Damghan University, Damghan, Iran. ³ B.A in Clinical Psychology Semnan Education Organization, Damghan Education Management, Damghan, Iran.

Abstract

Background and Objective: Neurogenesis is the process through which neurons are generated from neural stem cells. This process has been shown to occur in special zones of the adult brain including the subventricular zone (SVZ) of the lateral ventricles and the dentate gyrus of the hippocampus. Gonadal steroids affect different steps of neurogenesis, and cell proliferation seems to be increased by estrogens. This study aimed to investigate the neurogenic changes in the SVZ at different phases of the estrous cycle.

Methods: In this experimental study, 26 NMRI mice were used. The mice were identified by vaginal smear and then divided into 4 groups including proestrus (n=5), estrous (n=7), metestrus (n=7) and diestrus (n=7). Different stages of the estrous cycle were determined by staining vaginal smears. Also, the qualitative assessment of cell proliferation in the SVZ was performed by cresyl fast violet staining and glial fibrillary acidic protein (GFAP) immunohistochemistry at different stages of the estrous cycle.

Results: In microscopic sections stained with cresyl violet, it was observed that cell density in the proestrus stage of the estrous cycle was greater than in any other stages of the estrous cycle. A comparison of sections stained with anti-GFAP showed that the density of astrocytes in proestrus was significantly higher than in other groups.

Conclusion: Proestrus stage of the estrous cycle is associated with increased cell proliferation and density of astrocytes in the SVZ of mice. Neurogenesis is correlated to changes in sex hormonal levels at different phases of the estrus cycle.

Keywords: Subventricular Zone, Neurogenesis, Estrous Cycle, Astrocyte

*Corresponding Author: Mohammad Taghi Ghorbanian (Ph.D), E-mail: ghorbanian@du.ac.ir

Received 4 Dec 2021

Final Revised 18 Apr 2022

Accepted 19 Apr 2022

Published Online 26 Dec 2022

Cite this article as: Emamdust M, Ghorbanian MT, Banaian F. [Influence of Estrous Cycle Hormonal Fluctuations and Gonadal Hormones on Neurogenesis in the Subventricular Zone of Adult Mice]. J Gorgan Univ Med Sci. 2022; 24(3): 51-58. [Article in Persian]





تحقیقی

تغییرات هورمون‌های گنادی چرخه فعلی بر نورون‌زایی ناحیه زیر بطنی موش بالغ

ماندانا امام دوست^۱، دکتر محمدتقی قربانیان*^۲، فریا بنایان^۳

^۱ دانش آموخته کارشناسی ارشد رشته زیست‌شناسی جانوری (بافت و جنین)، گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه دامغان، دامغان، ایران. ^۲ دانشیار، گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده زیست‌شناسی، دانشگاه دامغان، دامغان، ایران. ^۳ کارشناس روانشناسی بالینی، سازمان آموزش و پرورش استان سمنان، آموزش و پرورش دامغان، دامغان، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: نورون‌زایی فرایندی است که نورون‌ها از سلول‌های بنیادی عصبی در برخی نواحی مغز بالغ مانند ناحیه زیر بطنی (Subventricular zone: SVZ) دیواره جانبی بطن‌های طرفی و شکنج دندان‌های هیپوکامپ رخ می‌دهد. هورمون‌های جنسی بر مراحل مختلف نورون‌زایی اثر داشته و هورمون استروژن موجب افزایش تکثیر سلولی می‌گردد. این مطالعه به منظور تعیین تغییرات هورمون‌های گنادی چرخه فعلی بر نورون‌زایی ناحیه زیر بطنی موش بالغ انجام شد.

روش بررسی: این مطالعه تجربی روی ۲۶ سر موش کوچک آزمایشگاهی ماده نژاد NMRI بالغ انجام شد. موش‌ها با تهیه اسمیر واژن تعیین چرخه شدند و سپس در چهار گروه شامل پرواستروس (n=۵)، استروس (n=۷)، مت‌استروس (n=۷) و دی‌استروس (n=۷) قرار گرفتند. حیوانات پس از تعیین مراحل چرخه فعلی به روش رنگ‌آمیزی اسمیر واژن، بیهوش و با پارافرمالدئید پرفیوژن شدند و مغز آنها برای تهیه مقاطع میکروسکوپی خارج شد. ارزیابی تکثیر سلولی در SVZ به روش رنگ‌آمیزی کریستال فاست ویوله و ایمونوهیستوشیمی برای نشانگر آنتی GFAP انجام گردید.

یافته‌ها: مشاهده مقاطع میکروسکوپی رنگ‌آمیزی شده با کرزیل ویوله نشان از افزایش آماری معنی‌دار تکثیر سلولی در مرحله پرواستروس نسبت به سایر مراحل چرخه فعلی داشت (P<۰/۰۵). مقایسه مقاطع رنگ شده به روش ایمونوهیستوشیمی برای آستروسیت‌ها نشان‌دهنده ارتباط تراکم این سلول‌ها با تغییرات هورمونی مراحل مختلف چرخه فعلی بود.

نتیجه‌گیری: مرحله پرواستروس چرخه فعلی با تکثیر سلولی و افزایش تراکم آستروسیت‌های SVZ مغز موش بالغ همراه است. نورون‌زایی با تغییرات سطح هورمون‌های جنسی در مراحل مختلف چرخه فعلی ارتباط دارد.

واژه‌های کلیدی: ناحیه زیر بطنی، نورون‌زایی، آستروسیت، چرخه فعلی

* نویسنده مسؤل: دکتر محمدتقی قربانیان، پست الکترونیکی ghorbanian@du.ac.ir

نشانی: دامغان، دانشگاه دامغان، دانشکده زیست‌شناسی، گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، تلفن و نامبر ۰۲۳-۳۵۲۴۴۶۶۶

وصول ۱۴۰۰/۹/۱۳ اصلاح نهایی ۱۴۰۱/۱/۲۹ پذیرش ۱۴۰۱/۱/۳۰ انتشار ۱۴۰۱/۱/۰۵

مقدمه

امروزه با افزایش طول عمر، بروز بیماری‌هایی که با پیری همراهند؛ افزایش یافته است. به دلیل یائسگی در زنان، میزان استرادیول کاهش قابل توجهی می‌یابد که با کاهش حافظه مرتبط است و با علائم اولیه بیماری آلزایمر همراه است.^۱ برخی از بافت‌های پستانداران در تمام طول حیات نوسازی می‌شوند این نوسازی سلولی، توسط جمعیتی از سلول‌های بنیادی ویژه هر بافت که پتانسیل تمایزی متفاوتی دارند؛ با نام سلول‌های بنیادی بالغ (Adult stem cells) صورت می‌گیرد.^{۲،۳} در اغلب پستانداران تولید نورون‌های جدید یا نورون‌زایی (Neurogenesis) از سلول‌های بنیادی عصبی در طول عمر در منطقه زیر بطنی ۳ (Subgranular zone: SVZ) مرتبط با قسمت قدامی مغز

جلویی و منطقه زیرگرانولی (SGZ) در امتداد لایه داخلی شکنج دندان‌های (Dentate gyrus: DG) در داخل تشکیلات هیپوکامپ در مغز موش بالغ رخ می‌دهد.^۴ SVZ حاوی بیشترین سلول‌های عصبی اجدادی (Progenitor) در حال تقسیم، در مغز جوندگان بالغ است.^۵ از نظر مورفولوژیک، دو لایه مجزا دیواره بطن‌های طرفی پستانداران بالغ را می‌پوشانند. لایه اپاندیمال مستقیماً در مجاورت بطن قرار دارد و لایه ساب‌اپاندیمال با چند ردیف سلولی که اصلی‌ترین بخش نورون‌زا در مغز بالغین است.^{۶،۷}

استرادیول در سیستم عصبی مرکزی، تمایز نورون‌ها و سلول‌های گلایال را تنظیم می‌کند. علاوه بر تنظیم بقا نورون‌های در حال رشد، استرادیول بر چهار جنبه از تکوین عصبی اثر تنظیمی دارد که شامل

۲ درصد رنگ شدند.

بافت شناسی و مورفومتری: حیوانات توسط تزریق داخل صفاقی مخلوط ۱۰۰ میلی گرم کتامین و ۱۰ میلی گرم زایلازین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت عمیق بیهوش شدند. با تزریق داخل قلبی محلول فسفات بافر (Phosphate buffered saline- PBS) و به دنبال آن محلول پارافمالدئید ۴ درصد سرد، پرفیوژن صورت گرفت و مغزها از جمجمه خارج شدند. مراحل ثبوت، پردازش بافتی، انجام و بافت‌ها با پارافین مذاب ۶۰ درجه سانتی‌گراد، قالب‌گیری شدند. سپس با استفاده از میکروتوم روتاری برش‌های ۵ میکرومتری کرومال تهیه شد. رنگ‌آمیزی کرزیل ویوله، اجسام نیسل سلول‌های عصبی را به رنگ بنفش و یا آبی لاجوردی نشان می‌دهد.^{۱۱} به منظور شمارش سلولی، ۷ برش متوالی (سریال) کرومال به ضخامت ۵ میکرومتر برای هر گروه با کمک eyepiece micrometer grid در مربع به مساحت ۱۰۰ میکرومتر مربع، شمارش شدند. تصاویر تهیه شده به کمک امکانات مورفومتری نصب بر سیستم تصویر برداری دوربین دیجیتال (Nikon, DXM 120, USA) انجام شد.

مطالعه ایمنو‌هیستوشیمی: به منظور بررسی تکثیر سلولی در SVZ از روش ایمنو‌هیستوشیمی برای نشانگر GFAP استفاده شد. مراحل انجام کار شامل پارافین زدایی و آب دهی در الکل‌های صعودی و شستشوی نمونه‌ها با آب بودند. سپس برای بازیابی آنتی ژن، مقاطع بافتی در بافر سترات سدیم قرار داده شد و نمونه‌ها در مایکروویو با شدت ۱۸۰، ۳۶۰، ۷۲۰ وات هر کدام به مدت پنج دقیقه قرار داده شدند. انکوباسیون نمونه‌های با محلول بلاک کننده سرم بز ۱۰ درصد و تریتون ۰/۳ درصد به مدت یک ساعت انجام گردید. انکوباسیون با آنتی بادی اولیه ضد GFAP (Monoclonal Anti-Glial Fibrillary Acidic Protein) رقیق شده ۱:۲۰۰ PBS، به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انجام شد. سپس شستشو با محلول PBS و انکوباسیون با آنتی‌بادی ثانویه کونژوگه با رودامین (Rhodamine conjugate, Goat Anti Mouse) (رقیق شده ۱:۲۰۰) به مدت دو ساعت در دمای ۳۷ درجه انجام شد. در پایان، شستشو با PBS و چسباندن با چسب گلیسرول فسفات و مشاهده با میکروسکوپ فلورسنت صورت گرفت.

از DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) برای رنگ‌آمیزی هسته استفاده شد. تصاویر میکروسکوپی با میکروسکوپ فلورسنت (Nikon Eclipse, E 600, Japan) و به کمک سیستم تصویربرداری دوربین دیجیتال (Nikon, DXM 120, USA) انجام شد. شدت و میزان بیان GFAP هیپوکامپ با نرم‌افزار Image اندازه‌گیری شد.

آنالیز آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-16 انجام شد. برای مقایسه بین گروهی و بررسی اختلاف بین

رشد آکسون‌ها، رشد دندریت‌ها، رشد خارهای دندریتی و تشکیل سیناپس است. از طرفی آستروسیت‌ها نقش مهمی در حفظ هموستازی بافت عصبی داشته و با بیان گیرنده‌های استروژن در فعالیت‌های محافظتی عصبی مرتبط با استرادیول در مغز دخالت دارد.^{۱۰،۹} سال‌ها تصور بر این بود که در سیستم عصبی مرکزی نوروها اصلی‌ترین هدف استرادیول است. امروز با روش ایمنو‌هیستوشیمی برای نشانگر GFAP نقش استرادیول بر رشد زوائد آستروسیت‌ها به تایید رسیده است.^{۱۱} موش‌ها دارای چرخه فعلی ۴-۵ روزه هستند و در این مدت میزان نوسانات هورمون‌های استروژن و پروژسترون چشمگیر است. مراحل چرخه فعلی به ترتیب شامل پرواستروس، استروس، متاستروس و دی‌استروس است که در طول مرحله پرواستروس، استرادیول در گردش افزایش یافته و رشد فولیکول کامل می‌شود. در گزارش پیشین نشان داده شد که به دنبال این تغییرات هورمونی، مورفولوژی آستروسیت‌ها در هیپوکامپ دچار تغییر می‌شود.^{۱۱} بنابراین نوروژن‌زایی در بالغین توسط تعدادی از عوامل داخلی و خارجی تنظیم می‌شود. این عوامل شامل فاکتورهای رشد و هورمون‌های جنسی است. هورمون‌های جنسی، تکامل، رشد، تمایز، بلوغ و عملکرد سیستم عصبی مرکزی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. این مطالعه به منظور تعیین تغییرات هورمون‌های گنادی چرخه فعلی بر نوروژن‌زایی ناحیه زیر بطنی موش بالغ انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۲۶ سر موش کوچک آزمایشگاهی ماده نژاد NMRI با سن تقریبی ۸-۶ هفته (بالغ) در دانشگاه دامغان طی سال ۱۳۹۳ انجام شد.

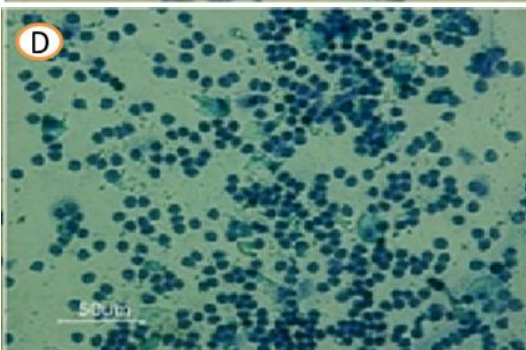
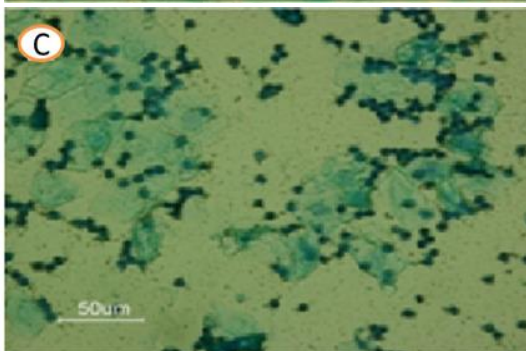
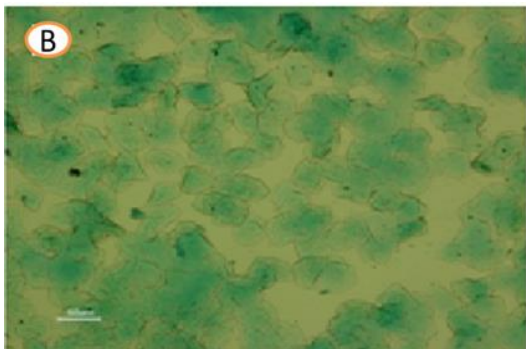
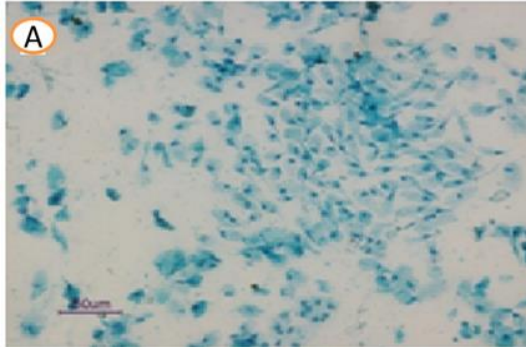
مطالعه مورد تایید دانشگاه دامغان (۱۵۹۱-۹۲/۱/۲۶) قرار گرفت. اصول اخلاقی کار بر روی حیوانات بر اساس دستور کار کمیته اخلاق دانشکده زیست‌شناسی دانشگاه دامغان رعایت گردید.

حیوانات از مؤسسه تحقیقاتی واکسن و سرم‌سازی رازی تهیه و به محل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی در دانشگاه دامغان منتقل شدند. موش‌ها در شرایط مناسب ۱۲ ساعت روشنایی - تاریکی، دمای ۲۴-۲۰ درجه سانتی‌گراد و با دسترسی آزادانه به آب و غذای کافی نگهداری شدند.

تعیین مراحل مختلف چرخه استروس با رنگ‌آمیزی اسمیر ترشحات واژن و بر اساس نوع و نسبت سلول‌های مشاهده شده در اسمیر واژنی انجام شد. سپس حیوانات در چهار گروه شامل پرواستروس (n=۵)، استروس (n=۷)، متاستروس (n=۷) و دی‌استروس (n=۷) قرار گرفتند.

برای تهیه اسمیر واژن، پس از انتقال ترشحات واژن بر روی لام، نمونه‌ها در دمای اتاق خشک و ثبوت با متانول و با متیلن بلو

مشاهده مقاطع رنگ‌آمیزی شده نشان داد که نشانگر GFAP در مراحل مختلف چرخه فحلی تفاوت بارزی داشته است. مرحله پرواستروس واکنش بیشتری را به نشانگر GFAP نسبت به سایر مراحل نشان داد. همان‌طور که در شکل ۳ و نمودار ۲ دیده می‌شود؛ تراکم سلول‌های GFAP مثبت یا سلول‌های بنیادی عصبی با تغییرات هورمونی چرخه فحلی مرتبط بود.



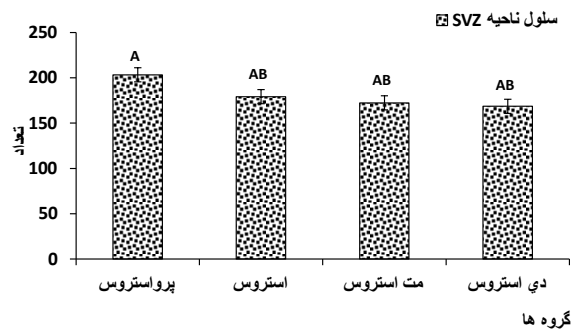
شکل ۱: تصویر میکروسکوپی مراحل مختلف چرخه استروس به روش رنگ‌آمیزی اسمیر واژن. (A) سلول‌های غالب در مرحله پرواستروس، سلول‌های پوششی هسته‌دار (پیکان)؛ (B) سلول‌های شاخی (پیکان) بیشترین سلول‌های موجود در مرحله استروس (C) سلول‌های مرحله مت‌استروس ترکیبی از لوکوسیت (پیکان کوتاه) و سلول‌های شاخی و پوششی (پیکان)؛ (D) لوکوسیت‌ها (پیکان کوتاه)

گروه‌ها از آزمون واریانس یک‌طرفه (One Way ANOVA) و به دنبال آن آزمون تکمیلی Tukey استفاده شد. داده‌ها به صورت میانگین و انحراف استاندارد از میانگین ارایه گردید. سطح معنی‌داری آزمون‌ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

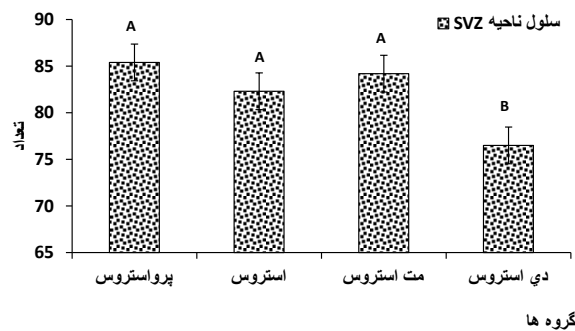
یافته‌ها

در مرحله پرواستروس، سلول‌های پوششی هسته‌دار و در استروس سلول‌های شاخی شده غالب بودند. در مرحله مت‌استروس حضور یکسان از لوکوسیت‌ها و سلول‌های شاخی شده و اپی‌تلیالی مشاهده گردید. در مرحله دی‌استروس برتری لوکوسیت‌ها مشخص شد (شکل یک). بیشترین میزان استروژن در مرحله پرواستروس چرخه فحلی وجود داشت.

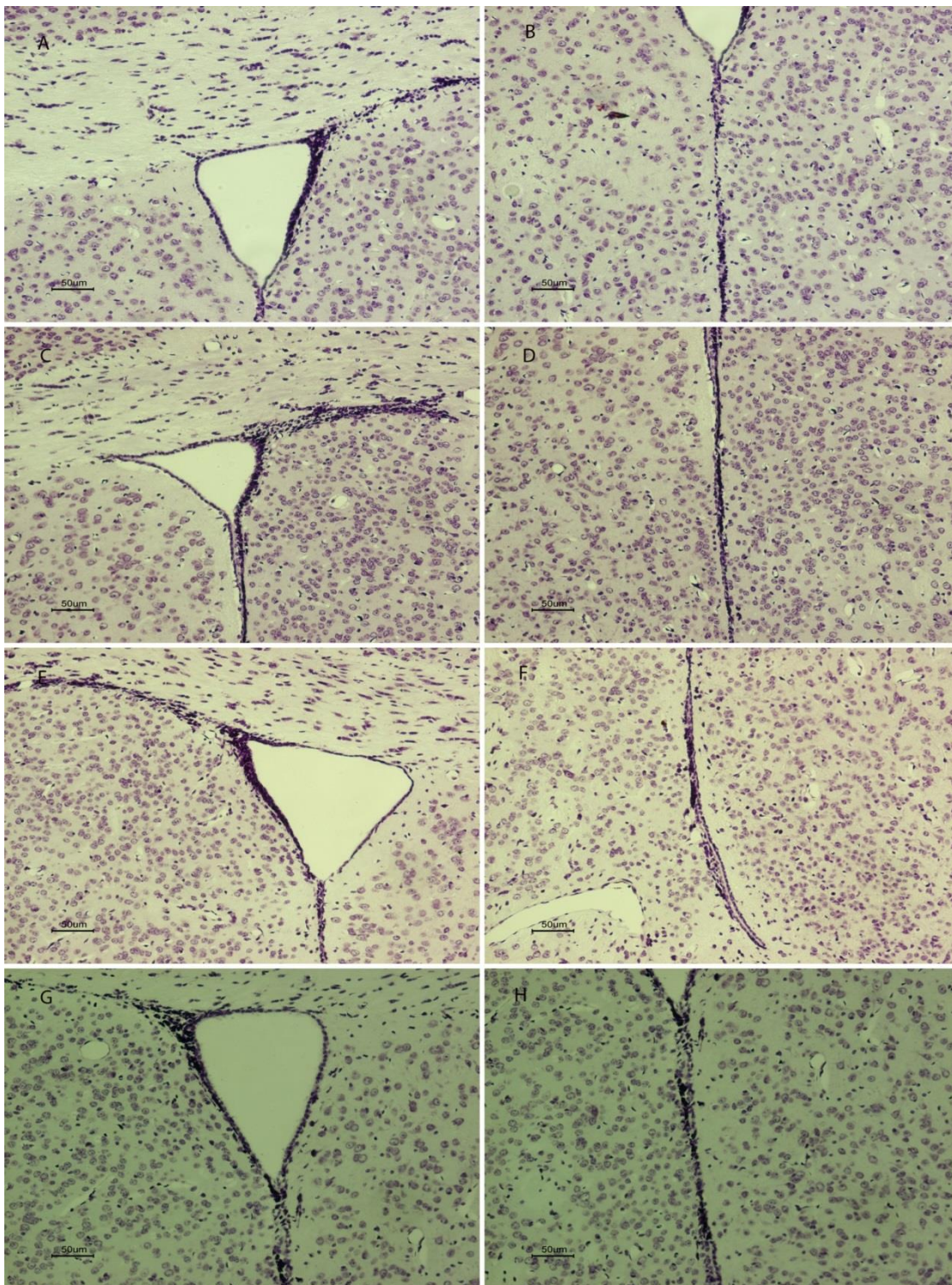
نتایج شمارش سلولی رنگ‌آمیزی کرزیل ویوله نشان داد که گروه استروس در مقایسه با پرواستروس، مت‌استروس و دی‌استروس تفاوت معنی‌داری نداشتند. درحالی‌که تعداد سلول‌های ناحیه SVZ در گروه پرواستروس نسبت به گروه مت‌استروس و دی‌استروس به لحاظ آماری بیشتر بود ($P < 0/05$) (شکل ۲ و نمودار یک).



نمودار ۱: مقایسه آماری سلول‌های عصبی شمارش شده ناحیه SVZ گروه‌های مورد آزمایش با یکدیگر
ستون A با ستون‌های AB دارای تفاوت آماری معنی‌دار هستند ($P < 0/05$).
ستون‌های AB با یکدیگر تفاوت معنی‌دار ندارند.



نمودار ۲: مقایسه سلول‌های GFAP مثبت ناحیه SVZ گروه‌های مورد آزمایش (مرحله پرواستروس، استروس، مت‌استروس و دی‌استروس)
گروه‌های پرواستروس، استروس و مت‌استروس یا دی‌استروس (ستون‌های A با ستون B) اختلاف آماری معنی‌دار دارند ($P < 0/05$).



شکل ۲: برش کروئال ناحیه SVZ با رنگ آمیزی کریزیل و بوله
 (A و B) مرحله پرواستروس؛ (C و D) مرحله استروس؛ (E و F) مرحله مت استروس؛ (G و H) مرحله دی استروس
 تراکم بیشتر سلولی در تصویر مربوط به مرحله پرواستروس نسبت به سایر مراحل دیده می‌شود. فلش نشان دهنده محل بطن است.

بحث

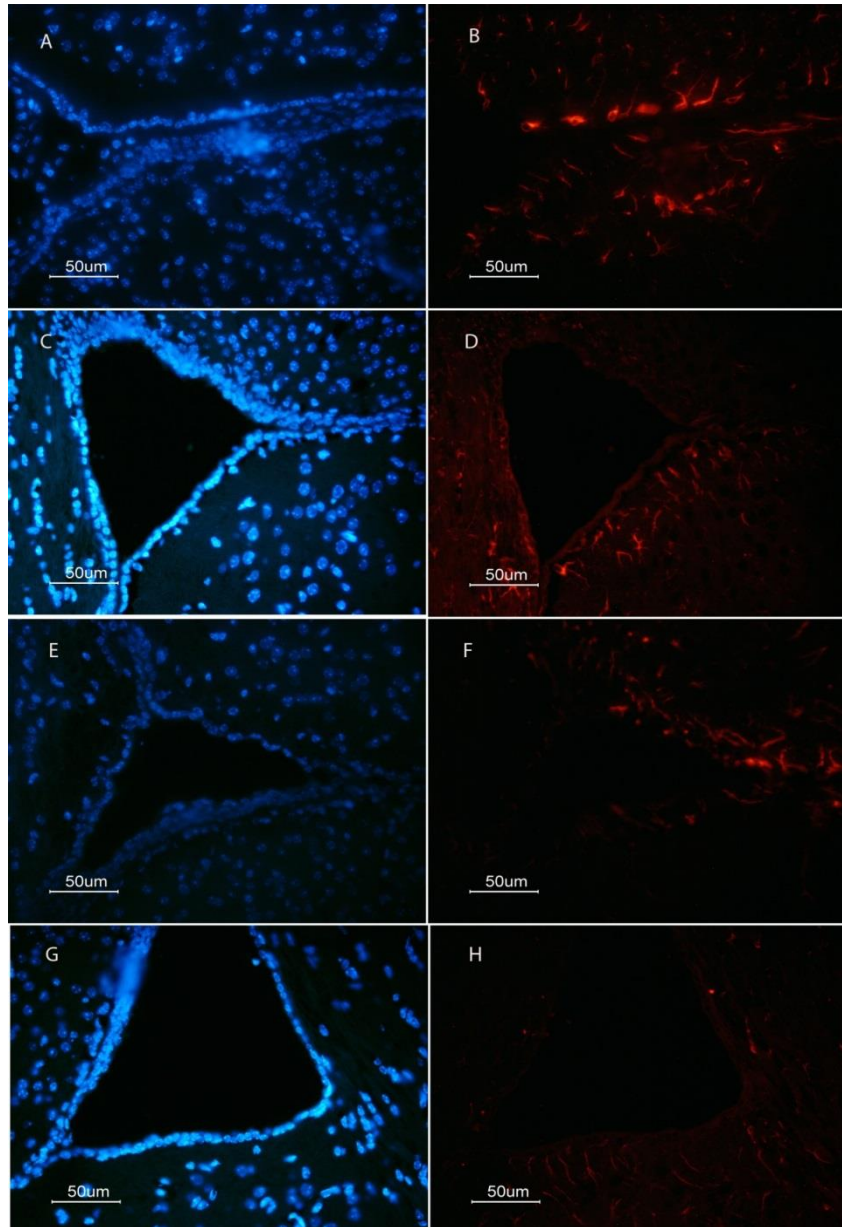
همانگونه که یکی از مراحل چهارگانه نوروژنایی تکثیر سلولی است؛ نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد تعداد سلول‌های شمارش شده در SVZ با تغییر مراحل چرخه فعلی و نوسان هورمون‌های جنسی به خصوص استروژن در ارتباط است. الگوی تغییر هورمون‌های

جنسی طی چرخه فعلی بر نوروژنایی در منطقه زیر بطنی اثر می‌گذارد. بسیاری از عوامل از جمله هورمون‌های جنسی، نوروژنایی بالغین را تحت تاثیر قرار می‌دهند.^{۱۲-۱۵} نوروژنایی در هیپوکامپ بالغین در جنس ماده در طول زندگی در پاسخ به نوسانات هورمون‌های استروئیدی در طول چرخه فعلی، تولیدمثلی، استرس و

چرخه فحلی در جوندگان ۴ تا ۵ روز طول می‌کشد و از مرحله دی‌استروس به تدریج هورمون ۱۷-بتا-استرادیول افزایش و در پرواستروس به اوج خود می‌رسد و به سرعت کاهش می‌یابد.^{۱۷} در مطالعه حاضر مراحل مختلف چرخه استروس با رنگ‌آمیزی اسمیر ترشحات واژن و بر اساس نوع و نسبت سلول‌های مشاهده شده تعیین گردید که با مطالعات گذشته مطابقت دارد.^{۱۲، ۱۳} در شرایط فیزیولوژیک در جوندگان، هورمون‌های گنادی در مدت زمان کوتاهی به شدت تغییر می‌کنند. در دی‌استروس میزان استرادیول گردش خون پایین ولی در پرواستروس بالاست. پرواستروس دوره‌ای بین تحلیل جسم زرد مربوط به چرخه قبل و استروس دوره جدید است و طی مرحله پرواستروس رشد فولیکول گرآف تکمیل می‌شود که اسمیر واژن غالباً از سلول‌های پوششی هسته‌دار تشکیل شده است.^{۱۸، ۱۹} نتایج اسمیر واژن گواهی هر یک از مراحل چرخه فحلی در مطالعه حاضر است. بسیاری از نورون‌ها ظرف دو هفته بعد از تولدشان می‌میرند؛ اما تیمار با استرادیول می‌تواند بقای نورون‌های جدید را افزایش دهد و یا سرکوب کند.^{۱۸} در مقابل موش صحرایی و موش کوچک آزمایشگاهی، نرخ تکثیر سلولی در شکمچ دندان‌های هیپوکامپ موش چمن‌زار بالغ با میزان استرادیول سرم ارتباط منفی دارد. میزان بالای استرادیول درون‌زاد موش صحرایی چمن‌زار با مهار نرخ تکثیر سلولی در شکمچ

دندان‌های هیپوکامپ مرتبط است.^{۲۰} اثرات استروژن بر روی تولید سلول در هیپوکامپ سریع و در عرض چند ساعت و به صورت پیوسته رخ می‌دهد. استرادیول هم تکثیر و هم تمایز نورون‌های جدید که نقش مهمی در سازماندهی مدار هیپوکامپ را دارند را تنظیم می‌کند.^{۲۱}

بیشتر مطالعات صورت گرفته بر نورون‌زایی به هیپوکامپ اختصاص دارد و کمتر به SVZ پرداخته شده است. در ارزیابی ایمنوهیستوشیمی نشانگر آستروسیت (GFAP)، بالاترین تعداد سلول و رنگ‌پذیری در مرحله پرواستروس و کمترین در دی‌استروس دیده شد. یکی از دلایل افزایش پاسخ به نشانگر آستروسیتی در مرحله



شکل ۳: مقاطع میکروسکوپی برش کرونال SVZ مغز در مراحل مختلف چرخه فحلی با رنگ آمیزی ایمنوهیستوشیمی برای نشانگر GFAP (به رنگ قرمز) و هسته سلول‌ها با DAPI (به رنگ آبی).
A و B) مرحله پرواستروس؛ C و D) مرحله استروس؛ E و F) مرحله مت استروس؛ G و H) مرحله دی استروس. فلش‌ها نشان دهنده سلول‌های GFAP مثبت است.

سن تغییر می‌کند. قرار گرفتن مکرر در معرض استرادیول هم بر تکثیر و هم بقاء سلولی جوندگان نر و ماده تاثیر می‌گذارد. هر دو نوع گیرنده‌های استروژن $ER\alpha$ و $ER\beta$ در مغز بیان می‌شوند.^{۱۵} یکی از نواحی مغز که در آن نورون‌زایی رخ می‌دهد و سلول‌های بنیادی عصبی وجود دارند؛ ناحیه دیواره جانبی بطن طرفی است. SVZ ناحیه ساب اپاندیمال دیواره جانبی بطن طرفی قرار دارد و بیشترین تعداد سلول‌های در حال تقسیم مغز بالغین را دارد.^{۱۶، ۱۷} در این مطالعه نیز همراه با مراحل چرخه فحلی، سلول‌های شمارش شده در SVZ افزایش و کاهش معنی‌دار نشان داد و در مرحله پرواستروس بیشترین سلول عصبی شمارش شد.

باعث افزایش سیناپتوژنز و نورون‌زایی و تولید فاکتورهای رشد عصبی در هیپوکامپ موش‌های ماده پیر می‌شود. اندازه‌گیری نورون‌زنی و سیناپتوژنز نشان می‌دهد که استروژن در موش‌های جوان و موش‌های با سن متوسط موثر واقع می‌شود. رنگ‌آمیزی به روش ایمونوسیشیمی برای نشانگر PCNA (Proliferating cell nuclear antigen) در شکنج دندانه‌ای هیپوکامپ در موش‌های تحت درمان با استرادیول افزایش می‌یابد. همچنین تیمار با استرادیول می‌تواند بر بقا سلول عصبی، بهبود جریان خون و رنگ‌زایی و حفظ ذخیره گلوکز موثر باشد.^۱ سطح ۱۷ بتااسترادیول گردش خون در طول مرحله پروستروس چرخه فحلی، به بالاترین مقدار می‌رسد و پس از اوج به سرعت کاهش می‌یابد. این سطح بالای ۱۷ بتااسترادیول باعث افزایش تحریک‌پذیری عصبی در شکنج دندانه‌ای می‌شود که با تکثیر سلولی و افزایش بیان cFos در موش‌های پرواستروس نسبت به موش‌های غیر پرواستروس می‌شود.^{۲۶}

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که افزایش تکثیر سلولی در مرحله پرواستروس که با غلظت بالای استروژن در پلاسمای خون همراه است؛ موجب افزایش تکثیر سلولی و تعداد آستروسیت‌ها می‌گردد. به نظر می‌رسد تغییرات هورمونی طی چرخه فحلی بر روند نورون‌زایی در SVZ موثرند.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه خانم ماندانا امام دوست برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته زیست‌شناسی جانوری (بافت و جنین) (شماره ۱۰۸۰۹۲۷) از دانشکده زیست‌شناسی دانشگاه دامغان بود. بدین‌وسیله از دانشکده زیست‌شناسی و پژوهشکده علوم زیستی دانشگاه دامغان به خاطر پرداخت هزینه‌ها و امکانات آزمایشگاهی تشکر می‌گردد. نویسندگان تضاد منافع نداشتند.

References

- Sager T, Kashon ML, Krajnak K. Estrogen and Environmental Enrichment Differentially Affect Neurogenesis, Dendritic Spine Immunolabeling and Synaptogenesis in the Hippocampus of Young and Reproductively Senescent Female Rats. *Neuroendocrinology*. 2018; 106(3): 252-63. DOI: 10.1159/000479699
- Cable J, Fuchs E, Weissman I, Jasper H, Glass D, Rando TA, et al. Adult stem cells and regenerative medicine-a symposium report. *Ann N Y Acad Sci*. 2020 Feb; 1462(1): 27-36. DOI: 10.1111/nyas.14243
- Rogers EH, Hunt JA, Pekovic-Vaughan V. Adult stem cell maintenance and tissue regeneration around the clock: do impaired stem cell clocks drive age-associated tissue degeneration? *Biogerontology*. 2018 Dec; 19(6): 497-517. DOI: 10.1007/s10522-018-9772-6
- van Praag H, Schinder AF, Christie BR, Toni N, Palmer TD, Gage FH. Functional neurogenesis in the adult hippocampus. *Nature*. 2002 Feb; 415(6875): 1030-34. DOI: 10.1038/4151030a

پرواستروس، بالا بودن غلظت استروژن در این مرحله است. عملکرد استرادیول بر آستروسیت‌ها به مولکول‌های پیرامونی و وضعیت سلامت مغز بستگی دارد. استرادیول بیان GFAP را در آستروسیت‌های سالم افزایش و در آستروسیت‌های تحریک شده کاهش می‌دهد.^{۲۲} مطالعات قبلی نیز نشان داد که تراکم سلول‌های GFAP مثبت در هیپوکامپ موش کوچک آزمایشگاهی در طول چرخه فحلی نوسان دارد. در مرحله پرواستروس که میزان هورمون استروژن بالا می‌رود؛ سلول‌های GFAP مثبت نیز افزایش می‌یابد.^{۱۵} تعداد بالای آستروسیت‌ها در بلوغ نشان‌دهنده نقش مهم این سلول‌ها در فیدبک مثبت نورواندوکرینی هستند و بر تنظیم هورمون‌های جنسی اثر دارد.^{۲۳} در این مطالعه نیز بیان GFAP در منطقه نورونیک SVZ با ورود به مرحله پرواستروس افزایش نشان داد. مغز به عنوان یک اندام دیمورفیک، هدف استروئیدهای جنسی است. استروئید جنسی به روش‌های متعدد می‌تواند فیزیولوژی مغزی را تغییر دهد. استروئیدهای گنادی در مراحل مختلف نورون‌زایی عمل می‌کنند و به نظر می‌رسد تکثیر سلولی با استفاده از استروژن‌ها افزایش می‌یابد.^{۲۴} البته این شواهد نمی‌تواند به تنهایی به نقش افزایش یافته کاهنده هورمون‌های جنسی در طول چرخه فحلی بر آستروسیت‌ها و نورون‌زایی اشاره نماید.^{۲۵،۲۶} در مطالعه ما نیز تکثیر سلول‌های عصبی ناحیه زیر بطنی در مرحله پرواستروس در مقایسه با سایر مراحل چرخه فحلی به دلیل میزان بالای استروژن، بیشتر بود. با توجه به وظایف مهم و بی‌شمار آستروسیت‌ها که اساسی‌ترین آن حفظ هموستازی عصبی (هدایت مهاجرت نورون‌ها، تعادل یونی، کنترل متابولیسم، تولید و بازسازی نوروترانسمیترها و محافظت آنتی‌اکسیدانتی) است؛ نباید از یاد برد که اثر هورمون‌های جنسی نظیر استرادیول بر جنین سلولی، ساده و یکسان نیست و به عوامل و شرایط متعدد (شرایط فیزیولوژیک و پاتولوژیک) و پیچیده‌ای بستگی دارد. مطالعه دیگری نشان داد درمان با استرادیول همچنین

- Kornack DR, Rakic P. The generation, migration, and differentiation of olfactory neurons in the adult primate brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001 Apr; 98(8): 4752-57. DOI: 10.1073/pnas.081074998
- Mami Matsumoto, Masato Sawada, Diego García-González, Vicente Herranz-Pérez, Takashi Ogino, Huy Bang Nguyen, et al. Dynamic Changes in Ultrastructure of the Primary Cilium in Migrating Neuroblasts in the Postnatal Brain. *Journal of Neuroscience*. 2019 Dec; 39(50): 9967-88. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1503-19.2019
- Gubert F, Zaverucha-do-Valle C, Pimentel-Coelho PM, Mendez-Otero R, Santiago MF. Radial glia-like cells persist in the adult rat brain. *Brain Res*. 2009 Mar; 1258: 43-52. DOI: 10.1016/j.brainres.2008.12.021
- Bond AM, Ming GL, Song H. Ontogeny of adult neural stem cells in the mammalian brain. *Curr Top Dev Biol*. 2021; 142: 67-98. DOI: 10.1016/bs.ctdb.2020.11.002
- Arevalo MA, Ruiz-Palmero I, Scerbo MJ, Acáz-Fonseca E,

- Cambiasso MJ, Garcia-Segura LM. Molecular mechanisms involved in the regulation of neurogenesis by estradiol: Recent advances. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2012 Aug; 131(1-2): 52-56. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2011.09.004
10. Acaz-Fonseca E, Sanchez-Gonzalez R, Azcoitia I, Arevalo MA, Garcia-Segura LM. Role of astrocytes in the neuroprotective actions of 17 β -estradiol and selective estrogen receptor modulators. *Mol Cell Endocrinol*. 2014 May; 389(1-2): 48-57. DOI: 10.1016/j.mce.2014.01.009
11. Matsuwaki T, Asakura R, Suzuki M, Yamanouchi K, Nishihara M. Age-dependent changes in progranulin expression in the mouse brain. *J Reprod Dev*. 2011 Feb; 57(1): 113-39. DOI: 10.1262/jrd.10-116s
12. Sadrollahi M, Ghorbanian MT, Zavareh S. [Hippocampal neurogenesis in mice at different phases of the estrous cycle]. *Feyz*. 2014; 18(4): 336-44. [Article in Persian]
13. Ghorbanian M T, Ghorbanian M, Sadrollahi M. [Morphological changes of the hippocampal astrocytes at different phases of the estrous cycle in female mice]. *Feyz*. 2015; 19(2): 118-26. [Article in Persian]
14. Galea LA. Gonadal hormone modulation of neurogenesis in the dentate gyrus of adult male and female rodents. *Brain Res Rev*. 2008 Mar; 57(2): 332-41. DOI: 10.1016/j.brainresrev.2007.05.008
15. Arias C, Zepeda A, Hernández-Ortega K, Leal-Galicia P, Lojero C, Camacho-Arroyo I. Sex and estrous cycle-dependent differences in glial fibrillary acidic protein immunoreactivity in the adult rat hippocampus. *Horm Behav*. 2009 Jan; 55(1): 257-63. DOI: 10.1016/j.yhbeh.2008.10.016
16. Barker JM, Galea LA. Repeated estradiol administration alters different aspects of neurogenesis and cell death in the hippocampus of female, but not male, rats. *Neuroscience*. 2008 Apr; 152(4): 888-902. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2007.10.071
17. Barha CK, Galea LA. Influence of different estrogens on neuroplasticity and cognition in the hippocampus. *Biochim Biophys Acta*. 2010 Oct; 1800(10): 1056-67. DOI: 10.1016/j.bbagen.2010.01.006
18. Westwood FR. The female rat reproductive cycle: a practical histological guide to staging. *Toxicol Pathol*. 2008 Apr; 36(3): 375-84. DOI: 10.1177/0192623308315665
19. Hubscher CH, Brooks DL, Johnson JR. A quantitative method for assessing stages of the rat estrous cycle. *Biotech Histochem*. 2005 Mar-Apr; 80(2): 79-87. DOI: 10.1080/10520290500138422
20. Falconer EM, Galea LA. Sex differences in cell proliferation, cell death and defensive behavior following acute predator odor stress in adult rats. *Brain Res*. 2003 Jun; 975(1-2): 22-36. DOI: 10.1016/s0006-8993(03)02542-3
21. Kight KE, McCarthy MM. Sex differences and estrogen regulation of BDNF gene expression, but not propeptide content, in the developing hippocampus. *J Neurosci Res*. 2017 Jan; 95(1-2): 345-54. DOI: 10.1002/jnr.23920
22. Mohr MA, DonCarlos LL, Sisk CL. Inhibiting Production of New Brain Cells during Puberty or Adulthood Blunts the Hormonally Induced Surge of Luteinizing Hormone in Female Rats. *eNeuro*. 2017 Nov; 4(5): ENEURO.0133-17.2017. DOI: 10.1523/ENEURO.0133-17.2017
23. Acaz-Fonseca E, Avila-Rodriguez M, Garcia-Segura LM, Barreto GE. Regulation of astroglia by gonadal steroid hormones under physiological and pathological conditions. *Prog Neurobiol*. 2016 Sep; 144: 5-26. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2016.06.002
24. Pawluski JL, Brummelte S, Barha CK, Crozier TM, Galea LA. Effects of steroid hormones on neurogenesis in the hippocampus of the adult female rodent during the estrous cycle, pregnancy, lactation and aging. *Front Neuroendocrinol*. 2009 Aug; 30(3): 343-57. DOI: 10.1016/j.yfrne.2009.03.007
25. Heberden C. Sex steroids and neurogenesis. *Biochem Pharmacol*. 2017 Oct; 141: 56-62. DOI: 10.1016/j.bcp.2017.05.019
26. Yagi S, Drewczynski D, Wainwright SR, Barha CK, Hershorn O, Galea LAM. Sex and estrous cycle differences in immediate early gene activation in the hippocampus and the dorsal striatum after the cue competition task. *Horm Behav*. 2017 Jan; 87: 69-79. DOI: 10.1016/j.yhbeh.2016.10.019