



## The Effect of Estrogen on Passive Avoidance Memory in an Experimental Model of Alzheimer's disease in Male Rats

Ahmad ali Moazedi<sup>1\*</sup>, Marzihsadat Moosavi<sup>1</sup>, Rahim Chinipardaz<sup>2</sup>

1. Dept. Biology, School of Science, Shahid Chamran University, Ahvaz, Ahvaz, Iran

2. Dept. Statistic, School of Matematic, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran

Received: 15 July 2010

Accepted: 9 Nov 2010

### Abstract

**Introduction:** Estrogen is one of the gonadal hormones that has multiple beneficial actions in central nervous system and involves in learning and memory. Alzheimer's disease (AD) is a progressive neurodegenerative disorder that impairs patient memory. The human nucleus basalis of Meynert (nBM) is severely affected in Alzheimer's disease. So in this study the effect of peripheral (intramuscular) injection of estradiol benzoate on passive avoidance memory was investigated in adult male wistar rats.

**Methods:** nBM bilateral electrical lesion rats were divided in to control, lesion, sham (lesion+ 0.2ml sesame oil) and estradiol treatment (lesion+ 0.2, 0.4, 0.8, 1.2 mg/kg). After injection estradiol or sesame oil (vehicle) each rat was trained by shuttle box one week. In this study two factors, latency in entering dark chamber and time spending in the dark chamber was considered.

**Results:** Statistical analysis showed that nBM bilateral lesion decrease the passive avoidance memory ( $P < 0.01$ ). Injection 0.2mg/kg estradiol does not improve memory. While injection 0.4 and 0.8mg/kg estradiol have improved memory ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ). But injection 1.2 mg/kg estradiol does not have distinctive effect on passive avoidance memory.

**Conclusion:** Estradiol benzoate affects passive avoidance memory in a dose dependent manner. It seems that estrogen improve memory through an interaction with cholinergic system via genomic and non-genomic mechanisms.

**Key words:** nBM, Alzheimer's disease, Estrogen, Shuttle box, Memory

\* Corresponding author e-mail: moazedi\_a@yahoo.com  
Available online at: www.phypha.ir/ppj

## اثر استروژن بر حافظه احترازی غیر فعال در موش های نر مدل تجربی بیماری آلزایمر

احمد علی معاضدی<sup>۱\*</sup>، مرضیه السادات موسوی<sup>۱</sup>، رحیم چینی پرداز<sup>۲</sup>  
۱. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران، اهواز  
۲. گروه آمار، دانشکده علوم ریاضی و کامپیوتر، دانشگاه شهید چمران، اهواز  
دریافت: ۲۴ تیر ۸۹ پذیرش: ۱۸ آبان ۸۹

### چکیده

**مقدمه:** استروژن یکی از هورمون های جنسی است که اعمال زیادی را بر روی دستگاه عصبی مرکزی اعمال می کند و در یادگیری و حافظه مشارکت دارد. بیماری آلزایمر یک بیماری تخریب کننده نورونی است که حافظه بیمار را کاهش می دهد. هسته قاعده ای مینرت در بیماری آلزایمر به شدت تحت تاثیر قرار می گیرد. بنابراین در این تحقیق اثر تزریق محیطی (داخل عضلانی) استرادیول بنزوات بر حافظه احترازی غیر فعال در موش های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار مورد بررسی قرار گرفت.

**روش ها:** موش های صحرایی با تخریب الکتریکی دو طرفه هسته قاعده ای مینرت به گروه های کنترل، تخریب، شاهد (تخریب + ۰.۲ میلی لیتر روغن کنجد)، استرادیول درمانی (تخریب + ۰.۲، ۰.۴، ۰.۸، ۱.۲ میلی گرم/کیلوگرم استرادیول بنزوات) تقسیم شدند. پس از تزریق استرادیول یا روغن کنجد (حلال) به مدت یک هفته هر موش در دستگاه شاتل باکس مورد آموزش قرار گرفت. در این ارزیابی دو فاکتور، زمان تاخیر در ورود به جعبه تاریک و زمان سپری شده در جعبه تاریک بعد از اعمال شوک مدنظر قرار گرفت.  
**یافته ها:** نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری بین همه گروه ها نشان داد که تخریب دو طرفه nBM موجب کاهش حافظه احترازی می شود ( $p < 0.01$ ). تزریق استرادیول با دوز ۰.۲ میلی گرم/کیلوگرم بهبودی در حافظه اعمال نکرد. در حالی که تزریق با دوزهای ۰.۴ و ۰.۸ میلی گرم/کیلوگرم باعث بهبود در حافظه شد ( $p < 0.05$ ،  $p < 0.01$ ). اما تزریق ۱/۲ میلی گرم/کیلوگرم استرادیول اثر معنی داری را بر روی حافظه احترازی غیر فعال اعمال نکرد.  
**نتیجه گیری:** می توان نتیجه گرفت که استرادیول بنزوات حافظه احترازی غیر فعال را به صورت وابسته به مقدار تحت تاثیر قرار می دهد. به نظر می رسد که استروژن از طریق تداخل عمل با سیستم کولینرژیک و به وسیله مکانسیم های ژنومیک و غیرژنومیک حافظه را بهبود می بخشد.

**واژه های کلیدی:** هسته قاعده ای مینرت، بیماری آلزایمر، استروژن، شاتل باکس، حافظه

### مقدمه

دخاله در سیستم تولیدمثلی بر دستگاه عصبی نیز تاثیرگذار است، لذا استروژن فراتر از یک هورمون جنسی عمل می کند. گیرنده های این هورمون در نواحی مختلف مغزی مانند مخچه، هیپوکامپ، هیپوتالاموس، هسته های قاعده مغز جلویی و قشر مغز یافت می شود [۳۶، ۳۵].

در سالهای اخیر یافته های فراوانی بیان کردند که سیستم

استروژن یکی از هورمون های جنسی است که علاوه بر

moazedi\_a@yahoo.com  
www.phypha.ir/ppj

\* نویسنده مسئول مکاتبات:  
وبگاه مجله:

استروژن-پروژسترون اثر اسکوپولامین را در موش‌های ماده خنثی می‌کند [۷].

مطالعات بالینی نیز نشان می‌دهد که استروژن خطر ابتلا به بیماری آلزایمر را کاهش داده و شروع و پیشرفت این بیماری را به تاخیر می‌اندازد [۴۱].

همچنین کاربرد استروژن خاصیت سمیت بتا-آمیلوئید (۱-۴۲) <sup>۴</sup> که باعث القاء مرگ سلولی نکروتیک می‌شود را به میزان زیادی مهار کرده و رشد نورونی را افزایش می‌دهد [۲۰]. از طرفی برخی مطالعات نشان می‌دهد که استروژن درمانی حاد یادگیری فضایی در ماز آبی موریس و حافظه احترازی را دچار اختلال می‌کند و در مقابل استروژن درمانی بلند مدت نقایص موجود در حافظه فضایی را اصلاح می‌کند [۸].

همچنین گزارش شده است که در طول فصل تولید مثل (استرادیول بالا) موش‌های صحرایی ماده در مقایسه با موش‌های نر در ماز آبی موریس اجرای ضعیف‌تری را نشان می‌دهند [۱۳]. علاوه بر این دانیل و همکارانش در سال ۲۰۰۷ گزارش داده‌اند که استروژن اگزوژن و آندوژن حافظه مرجع را تخریب می‌نماید و یا اینکه اثری روی حافظه ندارند [۶].

به نظر می‌رسد که عوامل مختلفی مانند برنامه زمانی تجویز استروژن، نوع تزریق (محیطی یا مرکزی)، سن، جنس، مقدار استروژن و وضعیت گنادی افراد در متفاوت شدن اثرات استروژن بر روی یادگیری و حافظه در مطالعات گوناگون دخیل باشند.

بنابراین با توجه به گزارشات متعدد و بعضاً متناقض در مورد اثرات استروژن بر روی یادگیری و حافظه در موش‌های سالم، لذا در این کار پژوهشی اثرات استروژن بر فرآیند حافظه در موش‌های آلزایمری شده با استفاده از دستگاه شاتل باکس مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روشها

موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار<sup>۵</sup> با میانگین وزنی (۱۸۰±۲۰) گرم حدوداً ۳ ماهه تهیه شده از مرکز تکثیر

کولینرژیک در بسیاری از فرآیندهای شناختی خصوصاً حافظه و یادگیری نقش دارد و ممکن است اثرات استروژن ناشی از تداخل عمل با نوروترانسمیتر استیل کولین باشد [۳۳، ۱۴].

هسته قاعده ای مینرت (nBM) یکی از هسته‌های قاعده مغز جلویی است که منبع اصلی و اولیه انشعابات کولینرژیک به هیپوکامپ و قشر مغز بوده و در فرآیندهای شناختی نقش بازی می‌کند [۱۱، ۱]. آوران‌های کولینرژیک که از nBM به نواحی از کورتکس کشیده می‌شوند مسیری است که در مغز بیماران آلزایمری به شدت تحت تأثیر قرار می‌گیرد [۲۱].

کاهش نورون‌های کولینرژیک قاعده مغز جلویی به وسیله کاهش در تعدادی از مارکرهای کولینرژیک مانند استیل کولین ترانسفراز<sup>۱</sup>، گیرنده‌های موسکارینی و نیکوتینی، همچنین سطح خود استیل کولین مشخص می‌شود [۲۱]. پژوهشگران متعددی به بررسی اثر استروژن بر عملکردهای شناختی پرداخته اند از جمله اینکه:

گزارش شده که استرادیول به طور انتخابی جایگاه‌های اتصال آگونیست بر روی کمپلکس گیرنده NMDA در ناحیه CA1 هیپوکامپی را تنظیم می‌کند [۴۰].

همچنین تجویز استروژن تراکم خارهای دندریتی ناحیه CA1 هیپوکامپی را در برش‌های مغزی موش‌های نر افزایش می‌دهد [۳۰]. گیس نیز در سال ۲۰۰۲ بیان کرد که نورون‌های کولینرژیک قاعده مغز جلویی برای افزایش اکتساب در یادگیری فضایی ساده در ماز T شکل به استروژن نیاز دارند [۱۰]. همچنین بیان شده که حافظه فضایی مرجع در موش‌های فاقد آروماتاز<sup>۲</sup> آسیب می‌بیند [۲۳].

در همین رابطه نیز گزارش شده است که استروژن درمانی بیان استیل کولین ترانسفراز را توسط نورون‌ها در هسته‌های قاعده مغز میانی در موش‌های ماده و آزادسازی استیل کولین از هیپوکامپ را افزایش می‌دهد [۳۰]. اسکوپولامین<sup>۳</sup> (آنتاگونیست استیل کولین) نیز اجرای موش‌ها را در ماز T شکل، ماز آبی و ماز شعاعی بازویی دچار اختلال می‌کند و درمان با استروژن و

1. Acetylcholin transferase
2. Aromatase-Dificient
3. Scopolamin

4. AB (1-42)  
5. Wistar

حجم ۰/۲ ml حلال) دریافت می کردند [۲، ۱۶، ۱۹] و بالاخره گروه شاهد (گروه هفتم) که بعد از تخریب nBM در طول دوره بهبودی به مدت ۷ روز ۰/۲ ml روغن کنجد دریافت می کردند. سپس همه گروه‌ها در روز هشتم به مدت ۳ روز با دستگاه شاتل باکس آموزش داده شدند.

دستگاه شاتل باکس و مراحل آموزش در آن: این دستگاه به شکل جعبه مستطیلی است که به دو قسمت یکسان به ابعاد ۲۰ × ۲۰ × ۳۰ سانتی متر تقسیم شده است و از جنس پلکسی گلاس<sup>۳</sup> می باشد. کف هر جعبه متشکل از میله‌های فلزی موازی به قطر ۲/۵ میلی متر و با فاصله ۸ میلی متر از همدیگر می باشد. در موقع آموزش اگر نیاز به شوک الکتریکی باشد از طریق همین میله‌ها اعمال می شود. جهت ارتباط میان دو جعبه پنجره‌ای کوچک به ابعاد ۸ × ۶/۵ سانتی متر تعبیه شده که در مواقع لزوم باز یا بسته می شود.

این دستگاه دارای یک قسمت کنترل کننده می باشد که با تنظیم شدت<sup>۴</sup> مدت<sup>۵</sup> و فرکانس<sup>۶</sup> میزان شوک الکتریکی لازم به پاهای حیوان اعمال می گردد [۲۵، ۲۶].

آموزش با استفاده از دستگاه شاتل باکس در طی مراحل زیر انجام می شود:

سازگاری<sup>۷</sup>: در این مرحله در اولین روز آموزش هر یک از موش‌ها به مدت ۳ دقیقه با دستگاه آشنا می شدند و با باز نمودن دریچه بین دو جعبه به آنها اجازه داده می شد که از قسمت روشن به قسمت تاریک آزادانه حرکت کنند.

مرحله آموزش<sup>۸</sup> یا اکتساب: روز بعد از مرحله سازگاری یعنی ۲۴ ساعت بعد، موش در قسمت روشن دستگاه قرار می گرفت. در این حالت دریچه بین دو جعبه می بایست بسته باشد. قبل از ورود به قسمت روشن دست و پای موش را مرطوب کرده تا شوک الکتریکی از طریق پا و دست‌ها بهتر احساس گردد. زمان ماندن در قسمت روشن ۳۰ ثانیه می باشد. پس از آن دریچه بین دو جعبه را باز کرده و مدت زمانی که موش از جعبه روشن

حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز مورد استفاده قرار گرفتند.

حیوانات قبل از جراحی در گروه‌های ۸ تایی و پس از جراحی در قفس انفرادی نگهداری می شدند. محل نگهداری حیوانات دارای شرایط ۱۲ ساعت روشنائی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای  $23 \pm 2$  C بود. آب و غذا به مقدار کافی در اختیار حیوانات قرار داشت.

قبل از انجام مراحل جراحی حیوان با مخلوطی از کتامین ۱۰ درصد و گزیلازین ۲ درصد به طریق داخل صفاقی (به ازای هر کیلوگرم وزن موش ۱۰۰ میلی گرم کتامین و ۱۰ میلی گرم گزیلازین) بیهوش می شد.

سپس تحت عملیات جراحی برای تخریب هسته nBM قرار می گرفت. الکتروود فلزی با روکش تفلون، به وسیله دستگاه استریوتاکسی به مختصات  $DV = -6/7$  mm  $P = -3/1$  mm  $ML = \pm 8/2$  mm از سطح جمجمه [۳۱] به صورت دو طرفه در هسته‌های nBM قرار می گرفت و سپس هسته‌های nBM توسط دستگاه تخریب کننده الکتریکی با جریانی معادل 0/5 میلی آمپر به مدت ۳ ثانیه تخریب می شد [۳۴، ۳۹].

تزریق استرادیول به مدت یک هفته بلافاصله [۱۲] پس از جراحی بصورت داخل عضلانی [۲۷] انجام می شد و پس از گذشت یک هفته با استفاده از دستگاه شاتل باکس حافظه احترازی غیرفعال حیوانات مورد بررسی قرار می گرفت.

در این کار پژوهشی حیوانات به طور تصادفی به ۷ گروه (n=۸) تقسیم می شدند:

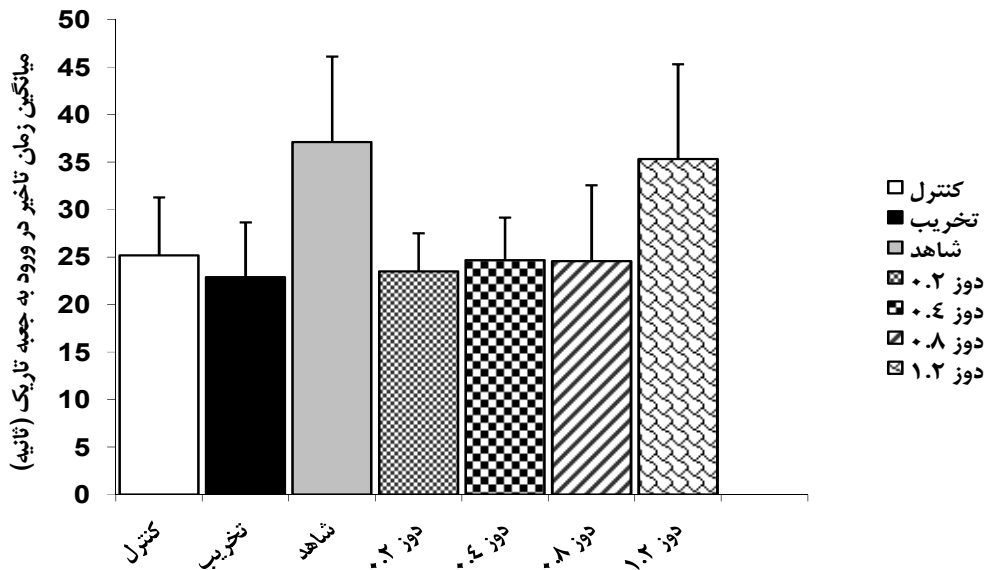
گروه کنترل دست نخورده<sup>۱</sup>: موش‌ها سالم و بدون هیچ گونه جراحی

گروه دوم: موش‌های جراحی شده و تخریب هسته قاعده‌ای مینرت (nBM).

گروه سوم: گروه تخریب nBM که در طول دوره بهبودی<sup>۲</sup> به مدت ۷ روز ۰/۲ mg/kg (در حجم ۰/۲ ml حلال) استرادیول بنزوات دریافت می کردند. در گروه‌های چهارم، پنجم و ششم نیز هسته‌های nBM تخریب و در طول دوره بهبودی به مدت ۷ روز به ترتیب مقادیر ۰/۴، ۰/۸ و ۱/۲ mg/kg (در

1. Intact
2. Ricavery

3. Plexiglass
4. Amplitude
5. Duration
6. Frequency
7. Habituation
8. Training



شکل ۱ = مقایسه میانگین زمان تاخیر در ورود به جعبه تاریک ( $X \pm S.E.M$ ) در ابتدای مرحله آموزش قبل از اعمال شوک در گروه‌های دریافت کننده مقادیر مختلف استرادیول بنزوات با گروه‌های کنترل، تخریب و شاهد ( $n=8$ ).

سپری شده در جعبه تاریک<sup>۲</sup> یادداشت می‌گردد که به عنوان زمان سپری شده در جعبه تاریک در ۴۸ ساعت بعد از آموزش و اعمال شوک در نظر گرفته می‌شود. در این قسمت برای مقایسه گروه‌ها از آزمون ANOVA از نوع آزمون LSD و Tukey جهت تعیین سطوح تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها استفاده شد و جهت مقایسه دو به دو گروه‌ها از آزمون t مستقل استفاده گردید و  $p < 0.05$  \* به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

مقایسه نتایج حاصل از آنالیز واریانس گروه‌های دریافت کننده مقادیر مختلف استرادیول بنزوات با گروه‌های کنترل، تخریب و شاهد نشان داد که در میانگین زمان تاخیر در ورود به جعبه تاریک در ابتدای آموزش، قبل از اعمال شوک الکتریکی (۲۴ ساعت بعد از سازگاری) بین این گروه‌ها اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (نمودار ۱) اما در مقایسه آنالیز واریانس این گروه‌ها در زمان تاخیر در ورود به جعبه تاریک ۴۸ ساعت بعد از آموزش و اعمال شوک بین گروه تخریب و مقادیر ۰/۴ و ۰/۸ mg/kg استرادیول بنزوات اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.01$ \*\*\*).

به تاریک می‌رود را یادداشت کرده که اگر از ۱۰۰ ثانیه تجاوز کند به علت عدم همکاری آن موش، از آزمایش‌ها حذف می‌شود. پس از آن که موش به قسمت تاریک رفت دریاچه بسته شده و بعد از ۵ ثانیه یک شوک الکتریکی به مدت ۲ ثانیه و با شدت ۱/۵ میلی‌آمپر به موش داده می‌شود [۲۶].

پس از گذشت ۲۰ ثانیه موش را از دستگاه خارج کرده و سایر موش‌ها نیز به همین ترتیب مورد آموزش قرار می‌گرفتند. مدت زمانی که طول می‌کشید تا موش از جعبه روشن به جعبه تاریک رود به عنوان زمان تاخیر در ورود به جعبه تاریک<sup>۱</sup> در ابتدای مرحله آموزش (قبل از اعمال شوک) می‌باشد که جهت کنترل توانایی بینایی و حرکتی به کار می‌رفت [۵].

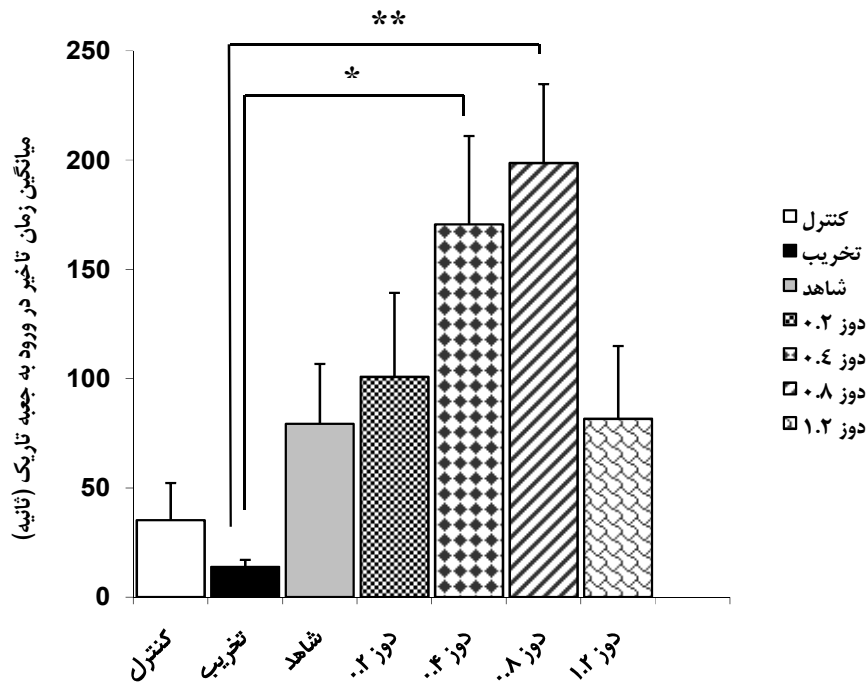
مرحله بخاطرآوری: پس از گذشت ۴۸ ساعت از مرحله قبلی، بخاطرآوری موش‌ها می‌بایست مورد ارزیابی قرار گیرد. بدین صورت که موش‌های آموزش دیده را به مدت ۳۰ ثانیه در جعبه روشن قرار داده و سپس دریاچه بین دو جعبه باز می‌گردد و زمان ورود به جعبه تاریک یادداشت می‌گردد. این زمان می‌بایست حداکثر تا ۳۰۰ ثانیه باشد و اگر موش تا این مدت ذکر شده به قسمت تاریک نرود همان ۳۰۰ ثانیه برای آن ثبت می‌گردد. بعد از آنکه موش به قسمت تاریک رفت مدت زمان

2. Time in dark compartment=TDC

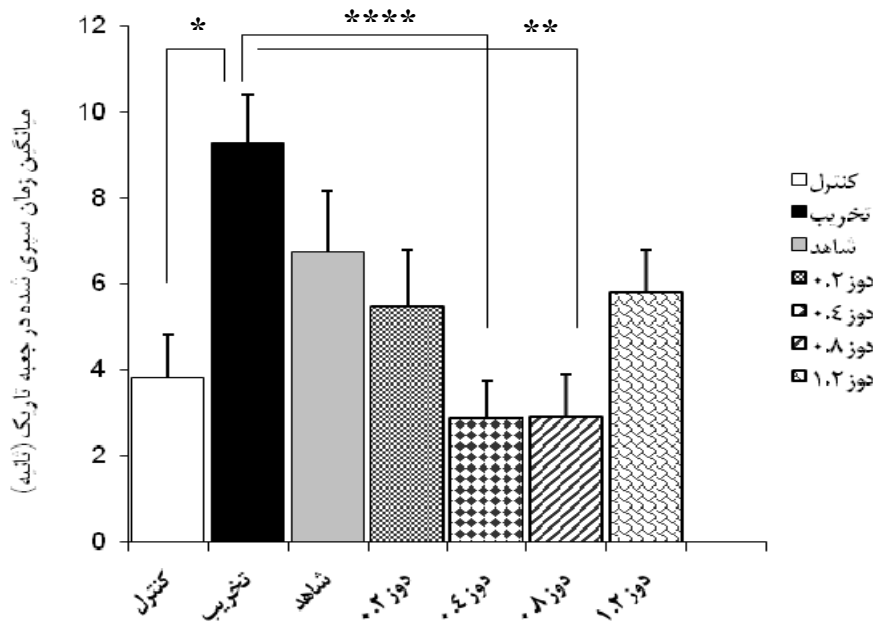
1. Step through latency=STL

گروه کنترل و تخریب اختلاف معنی داری ( $p < 0.05$ ) وجود دارد (نمودار ۳). این نتایج نشان داد که تخریب هسته دو طرفه nBM باعث کاهش فرآیند حافظه احترازی غیر فعال می‌شود. همچنین مقایسه آنالیز واریانس بین گروه‌ها نشان داد که در گروه شاهد روغن کنجد نسبت به گروه تخریب حافظه بهتر

وجود دارد (نمودار ۲). این نتایج نشان داد که استرادیول با این مقادیر باعث بهبود در حافظه احترازی غیرفعال در موش‌های آلزایمری شده است. در زمان سپری شده در جعبه تاریک ۴۸ ساعت بعد از آموزش، مقایسه آنالیز واریانس بین این گروه‌ها نیز نشان داد که بین



شکل ۲- مقایسه میانگین زمان تاخیر در ورود به جعبه تاریک ( $X \pm S.E.M$ ) ۴۸ ساعت بعد از آموزش و اعمال شوک در گروه‌های دریافت کننده مقادیر مختلف استرادیول بنزوات با گروه‌های کنترل، تخریب و شاهد ( $p < 0.05$ ،  $p < 0.01$ ،  $n=8$ )



شکل ۳- مقایسه میانگین زمان سپری شده در جعبه تاریک ( $X \pm S.E.M$ ) ۴۸ ساعت بعد از آموزش و اعمال شوک در گروه‌های دریافت کننده مقادیر مختلف استرادیول بنزوات با گروه‌های کنترل، تخریب و شاهد ( $p < 0.001$ ،  $p < 0.01$ ،  $p < 0.05$ ،  $n=8$ )

است (نمودار ۲،۳).

همچنین بین گروه تخریب و مقادیر  $0/4$  و  $0/8$  mg/kg استرادیول بنزوات نیز در زمان سپری شده در جعبه تاریک اختلاف معنی دار ( $p < 0/01$ ،  $p < 0/001$ ) وجود دارد (نمودار ۳).

## بحث

در این کار پژوهشی اثر تزریق محیطی استرادیول بنزوات بر فرآیند حافظه فضایی موش‌های صحرایی نر بالغ پس از تخریب الکتریکی دو طرفه هسته nBM و ایجاد آلازایمر مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت تا اثر بهبود دهنده استروژن بر حافظه مورد بررسی قرار گیرد.

مقایسه آنالیز واریانس گروه‌های دریافت کننده مقادیر مختلف استرادیول بنزوات با گروه‌های کنترل، تخریب و شاهد نشان داد که در زمان سپری شده در جعبه تاریک ۴۸ ساعت بعد از آموزش بین گروه کنترل و تخریب اختلاف معنی دار ( $p < 0/05$ ) وجود دارد (نمودار ۳).

این بدان معنی است که تخریب دو طرفه nBM باعث کاهش حافظه در موش‌ها گردیده است. گزارشات متعددی در این رابطه وجود دارد از جمله اینکه گزارش شده است که تخریب nBM باعث کاهش اکتساب و به خاطر آوری یادگیری فضایی می‌شود [۳۲]. همچنین تزریق داخل بطنی ایمونوتوکسین ساپورین<sup>۱</sup> سطح آنزیم استیل کولین ترانسفراز را در قشر و هیپوکامپ کاهش می‌دهد [۳۷].

علاوه بر این بیلی و همکارانش در سال ۲۰۰۷ نشان دادند که تخریب nBM به وسیله دو ماده کوئیزکوالیک اسید<sup>۲</sup> و ایمونوتوکسین ساپورین<sup>۳</sup> کسب یادگیری بویایی-خیالی<sup>۴</sup> را دچار اختلال می‌کند [۳] که موید نتایج به دست آمده در این کار تحقیقاتی متعاقب تخریب الکتریکی دو طرفه nBM می‌باشد.

مقایسه نتایج بین گروه تخریب و شاهد نشان نیز داد که روغن کنجد می‌تواند باعث بهبود در حافظه شود (نمودار ۲،۳). در این رابطه پیشنهاد شده است که روغن کنجد احتمالاً اثرات بهبود دهنده اش را از طریق اسیدهای چرب غیر اشباع که در ترکیب آن به وفور یافت می‌شود و می‌تواند با تغییر سیالیت غشا و کاهش کلسترول که باعث افزایش یادگیری می‌شوند، اعمال کند [۴۳،۱۸]. همچنین گفته شده است که روغن کنجد از طریق لیسیتین موجود در ترکیبش به عنوان پیشساز استیل-کولین می‌تواند یادگیری را افزایش دهد [۱۵].

مقایسه بین گروه شاهد (روغن کنجد) و آزمایش استرادیول بنزوات (مقدار  $0/2$  mg/kg) نشان داد که بین این دو گروه تفاوت معنی داری وجود ندارد. با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان اینچنین استنباط کرد که احتمالاً این مقدار استرادیول بنزوات کافی نبوده و نتوانسته اثری بر حافظه موش‌های آلازایمری اعمال کند و باعث بهبود حافظه در آنها گردد (نمودار ۲،۳). اما مقایسه بین گروه‌های شاهد (روغن کنجد)، تخریب و آزمایش استرادیول بنزوات (مقدار  $0/4$  mg/kg) و (مقدار  $0/8$  mg/kg) در زمان تاخیر و زمان سپری شده ۴۸ ساعت پس از آموزش نشان داد که بین این دو گروه با تخریب نیز اختلاف معنی داری ( $p < 0/05$ ،  $p < 0/01$ ،  $p < 0/001$ ) وجود دارد (نمودار ۳، ۲). این بدان معنی است که استرادیول بنزوات با این مقادیر توانسته است اثر بهبود دهنده در روند حافظه به دنبال تخریب nBM ایجاد نماید از طرفی مقایسه بین مقادیر  $0/4$  و  $0/8$  نشان داد که  $0/8$  mg/kg استرادیول توانسته است اثرات بهبود دهنده بیشتری نسبت به  $0/4$  mg/kg اعمال کند (نمودار ۲،۳). همه این نتایج اثرات مثبت استرادیول بنزوات بر روند حافظه متعاقب تخریب nBM را تایید می‌کند. در همین رابطه گزارش شده که استروژن درمانی حاد در موش‌های ماده تراکم خارهای دندریتی سلول-های شکنج دندانهای را افزایش می‌دهد [۴۲]. همچنین بیان شده که جایگزینی استروژن فعالیت شناختی موش‌های مسن را پس از محرومیت طولانی مدت استروژن بر می‌گرداند [۲۲].

همچنین هورواس و همکارانش اثرات ۱۷-بتا استرادیول را بر روی حافظه و یادگیری فعال و غیرفعال موش‌های ماده اواریکتومی شده مورد بررسی قرار داده و بیان کردند یادگیری فعال به طور مشخص سریعتر اتفاق افتاده است [۱۷].

1. ۱۹۲- IgG Soporin (SAP)
2. Quisqualic Acid (Quis)
3. ۱۹۲- IgG Soporin (SAP)
4. Olfactory discrimination learning set formation (OSDL)

آزمایشات فوق می توان اینچنین استنباط کرد که استرادیول به صورت وابسته به مقدار حافظه احترازی غیرفعال موش های آلیامری را تحت تاثیر قرار داده و باعث بهبود حافظه شده است. به نظر می رسد که استروژن با مکانیسم های دقیق حافظه را تحت تاثیر قرار می دهد و اثرات استروژن بر یادگیری و حافظه بسیار پیچیده است.

### سیاسگزاری

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به خاطر همکاری و مساعدت در انجام این پروژه پژوهشی کمال تشکر و قدردانی را می نمایم.

علاوه بر این استروژن درمانی کوتاه مدت موش های اواریکتومی شده، آزاد شدن استیل کولین هیپوکامپی را افزایش می دهد [۲۴]. هویدا و همکارانش در سال ۲۰۰۲ نیز بیان کردند که تزریق داخل نواحی CA1 هیپوکامپ استرادیول بنزوات باعث افزایش یادگیری و حافظه فضایی در ماز Y شکل می شود [۲۸].

در سال ۲۰۰۵ کوردی<sup>۱</sup> و همکارانش نیز بیان کردند که استروژن درمانی مرگ نورونی القاء شده به وسیله بتا آمیلوئید را تا ۲۵ درصد کاهش می دهد [۴] که موید نتایج به دست آمده در این کار پژوهشی است.

از طرفی مقایسه بین گروه های شاهد روغن کنجد و آزمایش استرادیول بنزوات (مقدار  $1/2 \text{ mg/kg}$ ) نشان داد که در این مقدار زمان تاخیر در ورود به جعبه تاریک کاهش و زمان سپری شده در جعبه تاریک افزایش یافته است. این بدان معنی است که استروژن با این مقدار اثرات معکوسی بر حافظه و یادگیری اعمال کرده است. در این باره نیز گزارش شده است که در یادگیری فضایی موش های صحرائی تفاوت جنسی وجود دارد و موش های نر نسبت به موش های ماده، اجرای بهتری دارند [۳۹]. زورکوسکی<sup>۲</sup> و همکارانش (۲۰۰۷) بیان کردند که تزریق داخل هیپوکامپی استرادیول بنزوات یادگیری مکانی<sup>۳</sup> را افزایش می دهد. در حالیکه تزریق داخل جسم مخطط یادگیری پاسخی<sup>۴</sup> را دچار اختلال می کند [۴۴]. علاوه بر این گزارش شده است که مقادیر بالای استرادیول حافظه مرجع، یادگیری پاسخ به محرک و شرطی شدن اشتهایی وابسته به آمیگدال را مهار می کند در حالی که بر روی حافظه کارکردی اثر کمتری دارد [۹]. همچنین برخی مطالعات نشان می دهد که درمان حاد استرادیول در مقادیر محدوده فیزیولوژیکی هیچ تاثیری بر عملکرد یادگیری و حافظه فضایی ندارد. از طرفی درمان با مقادیر زیاد استرادیول منجر به اختلال در عملکرد فضایی در ماز آبی موریس می شود [۳۸].

این گزارشات نتایج به دست آمده در این کار تحقیقاتی را تایید می نماید. بنابر این با توجه به نتایج بدست آمده از

1. Cordey
2. Zurkovsky
3. Place learning
4. Response learnnig



## References

- [1] Abraham IM, Koszegi Z, Tolod-kemp E, Szego EM, Action of estrogen on survival of basal forebrain cholinergic neurons: promoting amelioration. *Psychoneuroendocrino* 34 (2009) 104-112.
- [2] Azques P, Rivas A, et al, Modulation of short term and long term memory by steroid sexual hormones. *Life Sci* 56(14) (1995) 255-260.
- [3] Bailey AM, Lee JM, Lesion to the nucleus basalis mangocellularis lower performance but do not block the retention of a previously acquired learning set. *Brain Res* 1136 (2007) 110-121.
- [4] Cordey M, Pike CJ, Neuroprotective properties of selective estrogen receptor agonists in cultured neurons. *Brain Res* 1045(2005) 217-223.
- [5] Crawley JN, Bahavioral phenotyping of transgenic and knock-out mice experimental design and evaluation of general health, sensory function, motor abilities and specific behavioral test. *Brain Res* 835 (1999) 18-26.
- [6] Daniel JM, Lee CD, Estrogen replacement in ovariectomized rats strategy selection in the Morris Water maze. *Neurobiol Learn Mem* 82 (2004) 142-149.
- [7] Dohanich GP, Fader AJ, Javorsky DJ, Estrogen and Estrogen-progestrone treatments counteract the effect of scopolamine on reinforced T-maze alternation in female rats. *Behav Neurosci* 108 (1994) 988-992.
- [8] Fugger HN, Foster TC, Gustafsson JA, Novel effect of estradiol and estrogen receptor  $\alpha$  and  $\beta$  on cognitive function. *Brain Res* 883 (2000) 258-264.
- [9] Galea LA, Wide JK, Paine TA, et al, High levels of estradiol disrupt conditioned place preference learning, stimulus response learning and reference memory but have limited effects on working memory. *Behav Brain Res* 126 (2001) 115-126.
- [10] Gibbs RB, Basal forebrain cholinergic neurons are necessary for estrogen to enhance acquisition of a delayed matching-to-position T-maze task. *Horm Behav* 42 (2002) 245-257.
- [11] Gibbs RB, Johnson DA, Cholinergic lesions produce task-selective effects on delayed matching to position and configural association learning related to response pattern and strategy. *Neurobiol Learn Mem* 88 (2007) 19-32.
- [12] Gibbs RB, Effect of estrogen on basal forebrain cholinergic neurons vary as a function of dose and duration of treatment. *Brain Res* 757 (1997) 10-16.
- [13] Gupta RR, Sen S, Diepenhorst LL, et al, Estrogen modulates sexually dimorphic contextual fear conditioning and hippocampal Long-Term potentiation (LTP) in rats. *Brain Res* 888 (2001) 356-365.
- [14] Herholz K, Weisenbach S, Zundorf G, et al, In vivo study of acetylcholine esterase in basal forebrain, amygdala, and cortex in mild to moderate Alzheimer's disease. *NeuroImage* 21(2004) 136-143.
- [15] Higgins JG, Flicker L, Lecithin for dementia and cognitive impairment. *Cochrane Database Syst Rev* 4 (2000) 1015-1020.
- [16] Horvat A, Nikezic G, Martinovic JV, Estradiol binding to synaptosomal plasma membranes of rat brain regions. *Expriencia* 51(1995) 11-15.
- [17] Horvath KM, Hartig W, Van der veen R, et al,  $17\beta$ -Estradiol enhances cortical cholinergic innervation and preserves synaptic density following excitotoxic lesions to the rat nucleus basalis magnocellularis. *Neurosci* 110 (2002) 489-504.
- [18] Jonnlagada S, Mustad VA, et al, Effect of individual fatty acids on choronic disease. *Nutrition Today* 23(1995) 90-107.
- [19] Jonnlagada S, Mustad VA, et al, Effect of hormone manipulation and exploration on sex differences in Maze learning. *Behav Biol* 24(1978) 364-377.
- [20] Jung MI, Joo I, Sohn S, et al, Estrogen blocks neurotoxic effects of  $\beta$ -amyloid (1-42) and induces neurite extension on B103 cells. *Neurosci Lett* 235(1997) 101-104.
- [21] Maczurek A, Hager K, Kenkiles M, et al, Lipoic acid as an anti-inflammatory and neuroprotective treatment for Alzheimer's disease. *Advance Drug Delivery Rev* 60 (2008) 1463-1470.
- [22] Markowska AL, Savonenko AV, Effectiveness of estrogen replacement in restoration of cognitive function after long-term estrogen withdrawal in aging rats. *Neurosci* 24 (2002) 10985-10995.
- [23] Marriott LK, Korol DL, Short term estrogen treatment in ovariectomized rats augments hippocampal acetylcholin release during place learning. *Neurobiol Learn mem* 80 (2003) 315-322.
- [24] Martins S, Jones M, Simpson E, Impaired spatial

- reference memory in aromatase-deficient (Arco) mice. *NeuroReport* 14 (2003) 1979-1682.
- [25] Miu AC, Andreescu CE, Vasiiu R, et al, A behavioral and histological study of the effects of long-term exposure of adult rats to aluminum. *Neurosci* 113 (2003) 1197-1211.
- [26] Moazedi AA, Ghotbedin Z, Parham GH, The effect of Zncl2 on passive avoidance and motor activity learning due to administration of Alcl3 in male rats. *Physiol Pharmacol* (1386) 146-152.
- [27] Moazedi AA, Hovayda R, Rasekh A, The effect of estradiol benzoate on spatial learning and memory in male rats. *Behav Sci Res* (1384) 12.
- [28] Moazedi AA, Hovayda R, Rasekh A, The effect of injection of estradiol benzoate in CA1 hippocampus on spatial learning and memory in adult male rats. *J Modares Med Sci* (1383) 115-124.
- [29] Moharrami V. Biology Dept, School of Science: The effect of interahippocampal estradiol banzoate injection on spatial memory after bilateral electrical lesion of CA1 in adult male rats: (MS) *Shahid Chamran Ahvaz of IRAN Univ*.1383.
- [30] Packard MG, Kohlmaier JR, Alexander GM, Posttraining intrahippocampal estradiol injections enhance spatial memory in male rats: intraction with cholinergic system. *Behav Neurosci* 110 (1996) 626.
- [31] Pastor AM, Martinez AV, Blabch GG, Nicolovios MM, Effects of electrical stimulation of the nucleus basalis on two-way active avoidance acquisition, retention, and retrieval. *Behav Brain Res* 23(2004) 41-54.
- [32] Popovic M, Jovonova N, Popovic N, Behavioral and adaptivr state hn an experimental model of Alzheimer's disease in rats. *Neurosci* 86 (1996) 281-299.
- [33] Rispoli V, Rotiroti D, Carelli V, et al, Choline pivaloyl esters improve in rats cognitive and memory performances impaired by scopolamine treatment or lesions of the nucleus basalis of Meynert. *Neurosci Lett* 356(2004) 199-202.
- [34] Sarkaki A, Amani R, Badavi M, et al, Pre-Treatment Effect of Different Doses of Soy Isoflavones on Spatial Learning and Memory in an Ovariectomized Animal Model of Alzheimer's Disease. *J Pakestan Biol Sci* 11 (2008) 1114-1119.
- [35] Sherwin BB, Estrogen and cognitive aging in women. *Neurosci* 138 (2006) 1021-1026.
- [36] Shughrue PJ, Scrimo PJ, Merchenthaler I, Estrogen binding and estrogen receptor characterization (ER $\alpha$  and ER $\beta$ ) in the cholinergic neurons of the rat basal forebrain. *Neurosci* 96 (2000) 41-49.
- [37] Steckler T, Keith AB, Wiley RG, Sahgal A, Cholinergic lesion by 192 IgG-saporin and short-term recognit memory: Roie of the septhippocampal projection. *Neurosci* 66 (1995) 101-114.
- [38] Varga H, Nemeth h, Toth T, et al, Weak if any effect of estrogen on spatial memory in rats. *Acta Biol Szeged* 46 (2002) 13-16.
- [39] Warren SG, Juraska JM, Spatial and nonspatial learning across the rat esrous cycle. *Behav Neurosci* 111 (1997) 259-266.
- [40] Weiland NG, Estradiol selectively regulates agonist binding sites N-Methyl-D-Asparatate receptor compelex in the CA1 region of the hippocampus. *Endocrinology* 131(1992) 662-668.
- [41] Wilson LA, puolivali J, Heikkinen T, Riekkinen P, Estrogen and NMDA receptor antagonism: effects upon reference and Working memory. *Eur J Pharmacol* 381(1999) 93-99.
- [42] Woolley CS, Estradiol-mediated structural and functional synaptic plasticity in the female rat hippocampus. *Horm Behav* 34 (1998) 140-148.
- [43] Yehuda S, Brandys Y, Blumenfeld A, Essential fatty acid preparation reduces cholesterol and fatty acids in rat cortex. *Neurosci* 86 (1996) 249-256.
- [44] ZurkovskyL, Brown SL, Boyd SE, et al, Estrogen modulates learning in female rats by acting directlyat distinct Memory system. *Neurosci* 144 (2007) 26-37.