

## تأثیر استروژن‌درمانی بر اختلال عملکرد شناختی ناشی از تخریب هسته‌ی قاعده‌ای مگنوسولاریس: مدل حیوانی بیماری آلزایمر

ندا دبیر<sup>۱</sup>، احمد علی معاضدی<sup>۲</sup>، عباس حق‌پرست<sup>۳</sup>، لطف اله خواجه‌پور<sup>۴</sup>، محمدرضا آخوند<sup>۵</sup>

### مقاله پژوهشی

### چکیده

**مقدمه:** عملکردهای شناختی با افزایش سن و به مرور زمان کاهش می‌یابد که شاید به خاطر نقص عملکرد کولینرژیک در قاعده‌ی مغز جلویی باشد. با توجه به اهمیت فیزیولوژیک تأثیر سریع استروژن، این تحقیق با هدف ارزیابی اثر ۱۷-β استرادیول بر تخریب دو طرفه‌ی هسته‌ی قاعده‌ای مگنوسولاریس موش‌های صحرایی نر بالغ مدل بیماری آلزایمر انجام شد.

**روش‌ها:** در این مطالعه، ۴۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار (Wistar) به شش گروه هشت‌تایی تقسیم شدند. گروه شاهد (دست نخورده)، گروه تخریب Nucleus basalis of meynert (NBM) (تخریب دو طرفه‌ی هسته‌ی قاعده‌ای مگنوسولاریس با القای جریان الکتریکی ۰/۵ میلی‌آمپر به مدت ۳ ثانیه)، گروه شاهد تخریب (ورود الکترود به هسته‌ی NBM بدون القای جریان الکتریکی)، گروه استروژن (تخریب NBM + ۴۵ میکروگرم بر کیلوگرم ۱۷-β استرادیول)، گروه روغن کنجد (تخریب NBM + ۲۰۰ میکرولیتر روغن کنجد). در آزمون‌های اکتساب و یادآوری دستگاه ماز شعاعی هشت بازویی، الگوهای ورود به بازوها در هر گروه برای محاسبه‌ی انتخاب‌های درست، خطاهای حافظه‌ی کارکردی، خطاهای حافظه‌ی مرجع و زمان سپری شده در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها:** تخریب دو طرفه‌ی هسته‌ی NBM، کاهش حافظه‌ی فضایی در آزمون اکتساب را به شکل افزایش معنی‌داری در خطای حافظه‌ی کارکردی و مرجع ( $P < ۰/۰۰۱$ ) و همچنین کاهش این عملکردها در آزمون یادآوری ( $P < ۰/۰۰۱$ ) را نسبت به گروه شاهد تخریب نشان داد. تزریق ۱۷-β استرادیول (۴۵ میکروگرم بر کیلوگرم) بعد از تخریب NBM، پارامترهای حافظه‌ی فضایی را در دو آزمون اکتساب و یادآوری نسبت به گروه شاهد تخریب بهبود بخشید ( $P > ۰/۰۵۰$ ).

**نتیجه‌گیری:** تخریب الکتریکی NBM می‌تواند عملکرد حافظه‌ی فضایی را کاهش دهد. استروژن‌درمانی بعد از آسیب مغزی اختلال شناختی را بهبود داد.

**واژگان کلیدی:** بیماری آلزایمر، قاعده‌ی مغز جلویی، عملکرد شناختی، هسته‌ی قاعده‌ای مگنوسولاریس، استروژن

**ارجاع:** دبیر ندا، معاضدی احمد علی، حق‌پرست عباس، خواجه‌پور لطف اله، آخوند محمدرضا. تأثیر استروژن‌درمانی بر اختلال عملکرد شناختی ناشی از

تخریب هسته‌ی قاعده‌ای مگنوسولاریس: مدل حیوانی بیماری آلزایمر. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۵؛ ۳۴ (۳۷۰): ۶۴-۷۳

Amyloid beta) خارج سلولی زیاد می‌گردد که منجر به تشکیل پلاک Senile می‌شود (۴-۵). افزایش  $A\beta$  در سطح قشری با کاهش استیل کولین همراه است (۶). هسته‌ی قاعده‌ای مگنوسولاریس (Nucleus basalis magnocellularis یا NBM) یکی از هسته‌های قاعده‌ای مغز جلویی در جوندگان می‌باشد که با هسته‌ی قاعده‌ای مینرت در انسان‌ها برابری می‌کند (۸-۷، ۳). بیش از ۹۰ درصد از نوروها در NBM، کولینرژیک هستند (۹). سیستم کولینرژیک، تأثیر

### مقدمه

بیماری آلزایمر (Alzheimer's disease یا AD) یک نوع آسیب مغزی و اختلال تحلیل عصبی پیش‌رونده است. علائم بالینی این بیماری، اختلال حافظه، کاهش شناخت و تغییر رفتار می‌باشد (۱-۳). در مغز بیماران مبتلا به بیماری آلزایمر، رشته‌های نوروفیبریلاری داخل سلولی افزایش می‌یابد که نتیجه‌ی هیپر فسفریلاسیون پروتئین tau می‌باشد. از سوی دیگر، رسوب پروتئین بتا-آمیلوئید ( $A\beta$ ) یا

۱- دانشجوی دکتری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲- استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۳- استاد، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۴- دانشیار گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۵- استادیار، گروه آمار، دانشکده‌ی علوم ریاضی و کامپیوتر، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

آزمون اکتساب و یادآوری قرار گرفتند. گروه تخریب، موش‌هایی بودند که جهت ایجاد مدل آلزایمر، هسته‌ی NBM آن‌ها به صورت دو طرفه با روش الکتریکی تخریب شد و ۱۰ روز بعد، بدون هیچ گونه تزریقی تحت آزمون قرار گرفتند. گروه شاهد تخریب، موش‌هایی بودند که الکتروُد به هسته‌ی NBM آن‌ها وارد شد، اما تخریبی ایجاد نکرد و پس از ۱۰ روز بدون تزریق تحت آزمون قرار گرفتند. گروه استروژن، موش‌هایی بودند که جهت ایجاد مدل آلزایمر، هسته‌ی NBM آن‌ها به صورت دو طرفه، با روش الکتریکی تخریب شد و ۱۰ روز بعد و ۳۰ دقیقه قبل از آموزش، با  $\beta$ -۱۷ استرادیول (۴۵ میکروگرم بر کیلوگرم) به صورت تزریق زیر پوستی (SC یا Subcutaneous) تحت آزمون و درمان قرار گرفتند (۲۳). گروه روغن کنجد، موش‌هایی بودند که جهت ایجاد مدل آلزایمر، هسته‌ی NBM آن‌ها به صورت دو طرفه با روش الکتریکی تخریب شد و بعد از ۱۰ روز، ۳۰ دقیقه قبل از آموزش، روغن کنجد (حلال دارو) به میزان ۲۰۰ میکرولیتر دریافت نمودند و تحت آزمون قرار گرفتند.

#### موش مدل آلزایمر با تخریب دو طرفه‌ی NBM

موش‌ها جهت تخریب هسته‌ی NBM تحت بیهوشی عمومی با تزریق داخل صفاقی مخلوطی متشکل از ۷۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم کلروهیدرات کتامین ۱۰ درصد (شرکت آلفاسان، هلند) و ۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم زایلازین ۲ درصد (شرکت آلفاسان، هلند) قرار گرفتند. برای تخریب این هسته، از دستگاه استریوتاکسی (شرکت Stoelting، آمریکا) استفاده گردید. میله‌ی دندانی ۳/۳ میلی‌متر زیر صفر افقی قرار داشت تا مطابق اطلس وضعیت مناسب مجموعه حاصل گردد پس از قرار گرفتن الکتروُد تک قطبی تخریبی (جنس پلاتین، روکش تفلون، قطر الکتروُد ۰/۸ میلی‌متر، شرکت Stoelting، آمریکا) در NBM که منطبق با مختصات اطلس Paxinos و Watson عبارت از AP برابر ۱/۳۰- میلی‌متر از نقطه‌ی برگما، ML برابر ۲/۸± میلی‌متر از خط میانی و DV برابر ۷/۶- میلی‌متر از سطح جمجمه بود (۲۴)، هسته‌ی NBM با استفاده از یک دستگاه تخریب‌ساز (شرکت Device، ایتالیا) که یک شدت جریان ۰/۵ میلی‌آمپر را به مدت ۳ ثانیه می‌فرستاد، تخریب گردید و مدل آلزایمر ایجاد شد (۲۵). ۱۰ روز بعد از جراحی، آزمون رفتاری با دستگاه ماز شعاعی هشت بازویی آغاز گردید.

#### دستگاه ماز شعاعی هشت بازویی

ماز شعاعی هشت بازویی، از جنس پلکسی‌گلاس برای بررسی حافظه‌ی فضایی مورد استفاده قرار گرفت. این ماز، متشکل از یک سکوی مرکزی (با قطر ۲۶ سانتی‌متر) و ۸ بازو با فواصل یکسان (طول ۵۰ سانتی‌متر، عرض ۱۰ سانتی‌متر) بود. علائم نشانه در محیط اطراف ماز وجود داشت که در طول دوره‌ی آزمایش، در مکان‌های ثابتی قرار گرفته بودند. رویکرد حاضر، عملکردهای عامل تقویت در

گسترده‌ای در پردازش اطلاعات در بخش‌های بزرگی از قشر و هیپوکامپ دارد و در تفکیک منابع توجه، حافظه‌ی کارکردی، جلوگیری از ورود اطلاعات نامربوط و بهبود عملکرد در کارهای مستمر نقش دارد (۱۲-۱۰).

کاربرد درمانی و پیش‌گیرانه‌ی استروئیدهای گنادی، همچنان در زمره‌ی بحث برانگیزترین موضوعات علم پزشکی است (۱۳). شاید، یک راه‌کار درمانی بعد از آسیب مغزی، استفاده از ترکیبات استروژنی است. همچنین، زمان شروع استفاده از استروژن، در تعیین میزان کارایی آن بسیار ضروری است (۱۴). از سه شکل اصلی استروژن (استرون، استرادیول و استریول)،  $\beta$ -۱۷ استرادیول (E2) استروژنی است که اغلب مسئول تأثیرات استروژنی مشاهده شده در مغز می‌باشد (۱۵). گیرنده‌های استروژن در NBM انسان و موش وجود دارند (۱۶-۱۷). سطح استروژن در مغز افراد دچار بیماری آلزایمر، کمتر از حد طبیعی آن است (۱۸). یک جایگاه فعالیت احتمالی برای استروژن در مغز، سیستم کولینرژیک می‌باشد (۱۹، ۱۰).

الگوهای تخریب هسته‌ی کولینرژیک NBM برای مطالعه‌ی نقش سیستم کولینرژیک قشری در هوشیاری و درک به کار می‌رود و بر نقص‌های ادراکی ایجاد شده در بیماری آلزایمر دلالت دارد (۲۰).

به علاوه، این عقیده وجود دارد که استروژن مغزی به عنوان عامل حفاظت عصبی عمل می‌کند. درمان با دز بالای E2 بعد از آسیب مغزی، به طور مؤثر مرگ سلولی و حجم تخریب را کاهش می‌دهد (۲۱).

از این رو، در مطالعه‌ی حاضر، بر اساس تخریب ایجاد شده در هسته‌ی NBM، شواهدی برای نقش آن در شناخت ارایه داده شد. سپس، تأثیر درمان با دز بالای E2 بر عملکردهای شناختی ارزیابی گردید.

#### روش‌ها

موش‌های نژاد Wistar نر بالغ از مرکز تکثیر دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز با محدوده‌ی وزنی  $15 \pm 215$  گرم در شروع آزمایش برای انجام این تحقیق به کار گرفته شدند. همه‌ی موش‌ها جدا از هم و تحت شرایط کنترل شده‌ی دمایی  $3 \pm 23$  درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت ۵۰-۴۰ درصد (۲۲) در یک چرخه‌ی روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. آب و غذا آزادانه در اختیار موش‌ها قرار گرفت. تمام آزمایش‌ها مطابق با دستورالعمل مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی انجام شدند.

$\beta$ -۱۷ استرادیول (CAS Number: 50-50-0) و روغن کنجد (CAS Number: 80084-0-7) از شرکت Sigma تهیه گردید. موش‌ها به طور تصادفی به ۵ گروه (n = ۸) تقسیم شدند. گروه شاهد، هیچ گونه تزریقی دریافت نکردند و مطابق دستورالعمل تحت

مرحله‌ی سوم، آزمون یادآوری بود که ۷ روز بعد از آخرین روز اکتساب انجام گرفت (۲۹). برای آزمون اکتساب و یادآوری، الگوی داخل شدن برای پاسخ صحیح و انواع خطاها مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

در ماز شعاعی هشت بازویی، موش‌ها باید یاد بگیرند حرکت کنند و جهت‌های خاصی را دنبال نمایند که غذا در انتهای آن بازو یافت می‌شود و اگر آن‌ها به انتهای بازوی مورد نظر رسیدند و غذا را خوردند، دیگر غذایی جایگزین آن نمی‌شود (اکتساب). در مقابل، بعد از یادگیری، در طول آزمون یادآوری، موش‌ها باید بازوهایی را که با استفاده از نشانه‌های فضایی در آن غذا یافته بودند، به یاد می‌آوردند و دوره‌ی آزمون را مطابق الگوی تعیین شده برای هر موش کامل می‌کردند. بنا بر این، مرحله‌ی یادگیری متفاوت از مرحله‌ی حافظه بود (۲۷).

حافظه‌ی کارکردی، می‌تواند به عنوان «به کارگیری و بازیابی اطلاعات منحصر به فرد (۳۰) در ذهن در طول مدت کوتاهی از زمان که تحت تأثیر افزایش سن هم قرار گرفته است، تعریف شود» (۳۱). در حالی که حافظه‌ی مرجع، می‌تواند به عنوان «یک حافظه‌ی بلند مدت برای رویدادها یا محرک‌هایی که در طول زمان ثابت باقی می‌مانند» تعریف شود (۳۲).

خطای حافظه‌ی کارکردی به عنوان «بازدید دوباره از یک بازو که در آن پاداش غذایی به عنوان تقویت کننده را در طول مراحل قبلی آزمایش دریافت کرده است»، تعریف می‌شود. خطای حافظه‌ی مرجع، به عنوان «بازدید از یک بازو که هرگز در آن طعمه‌گذاری صورت نگرفته باشد»، تعریف می‌شود (۲۲).

#### تأیید بافت‌شناسی

بعد از اتمام آزمون رفتاری، حیوانات به طور عمیق با استفاده از کتامین و زایلازین بیهوش شدند. مغز آن‌ها برداشته و در فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شد. بعد از بلوک‌گیری، برش‌های ۲۰ میکرومتری از نزدیک ناحیه‌ی تخریب و محل تخریب الکتروود تهیه گردید. برش‌ها با Hematoxiline و Eosin (H&E) رنگ‌آمیزی و سپس، با استفاده از میکروسکوپ نوری (EX51، ساخت Olympus، ژاپن) برای تعیین مکان تخریب NBM مورد بررسی قرار گرفتند (شکل ۱) (۳۳). داده‌های مطالعه‌ی حاضر در نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) ثبت گردید. مقایسه‌ی آماری برای عملکرد حافظه‌ی کارکردی و مرجع در دو آزمون اکتساب و یادآوری ماز شعاعی هشت بازویی، با استفاده از Two-way repeated measures ANOVA انجام شد؛ برای ارزیابی بیشتر، Bonferroni post hoc به کار گرفته شد. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار ارائه گردید و  $P < 0.05$  به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

حافظه و یادگیری را نیز مورد بررسی قرار داد. تقویت کننده‌ها، از طریق گروه خاصی از پاسخ‌ها، که با هر یک از سیستم‌های حافظه ارتباط برقرار می‌کنند، به طریقه‌ی متفاوتی موجب تغییرات رفتاری می‌شوند (۲۶).

ماز بازویی شعاعی، به رابطه‌ای که موش‌ها بین نشانه‌ها در محیط و جایگاه تقویت کننده برقرار می‌کنند، تکیه دارد؛ از این جهت، بیانگر یادگیری فضایی است (۲۷). مزیت ماز بازویی شعاعی، این است که موش‌ها از توانایی‌های جستجوی طبیعی و استعدادها و غریزه‌های کاوشی خود استفاده می‌کنند و عیب آن، محدودیت غذایی است که می‌تواند تفاوت‌هایی در انگیزه، متابولیسم یا سطح انرژی ایجاد کند که ممکن است بر نتایج تأثیر بگذارند.

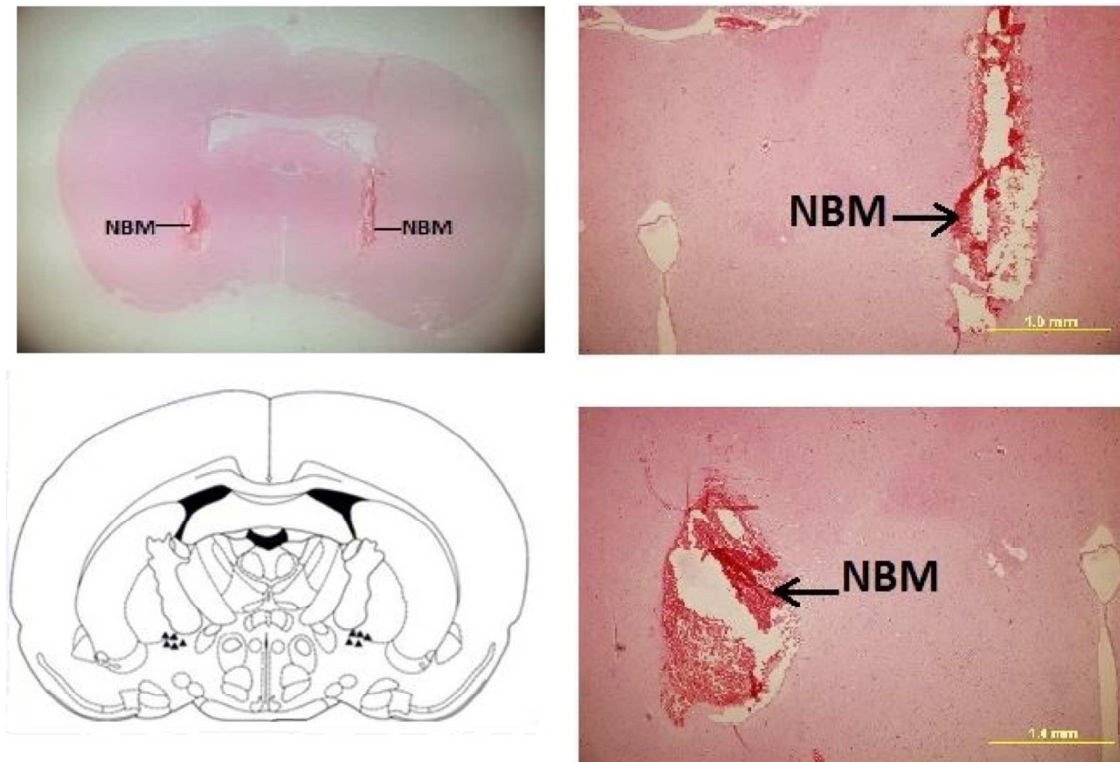
قبل از شروع آزمایش، با محدود کردن غذا، وزن موش‌ها به ۸۵ درصد وزن اولیه رسید. این ۸۵-۸۰ درصد وزن طبیعی بدن در طول آزمون، با محدود کردن جذب غذا حفظ شد. برای کمک به رشد موش‌ها، اجازه داده شد تا هر هفته ۵ گرم اضافه وزن داشته باشند (۲۲).

موش‌ها به خوردن تکه‌های کوچک پنیر، ابتدا در قفس انفرادی در طول مرحله‌ی کاهش وزن عادت داده شدند و سپس در طول دوره‌ی آزمون ماز شعاعی هشت بازویی، تکه‌های پنیر به صورت روزانه و با وزن ۴۵ میلی‌گرم آماده شد (۲۸، ۲۲).

آزمون ماز شعاعی هشت بازویی، مطابق با آخرین گزارش‌ها در سه مرحله‌ی آشنایی، اکتساب و یادآوری که در مجموع شامل ۲۰ دور است، انجام شد؛ به این ترتیب که مرحله‌ی آشنایی و اکتساب دو بار در روز به فاصله‌ی ۲ ساعت و مرحله‌ی یادآوری سه بار در یک جلسه برای هر موش انجام شد.

در مرحله‌ی آشنایی که در ۲ روز انجام گرفت، همه‌ی بازوها با غذا طعمه‌گذاری شدند. این مرحله، ابتدا به شکل گروهی و سپس انفرادی صورت گرفت. در آشنایی گروهی، روز اول اجازه داده شد سه موش هم‌زمان به مدت ۱۰ دقیقه ماز طعمه‌گذاری شده را جستجو کنند تا به دستگاه عادت کنند. در آشنایی انفرادی، روز دوم به هر موش ۳ دقیقه زمان داده شد تا همه‌ی بازوهای طعمه‌گذاری شده را جستجو کند. در این روش، موش در می‌یابد که به دست آوردن غذا با کامل طی کردن بازو میسر است.

دومین مرحله، اکتساب به دنبال دوره‌ی آشنایی است. در طول ۵ روز دوره‌ی آموزش، ۴ بازو از ۸ بازو طعمه‌گذاری شد. الگوی طعمه‌گذاری به گونه‌ای انتخاب شد که سطح دشواری آن برای همه‌ی موش‌ها یکسان باشد. این الگو، در دوره‌های آموزش و یادآوری برای هر موش باقی ماند. اتمام هر دور، زمانی بود که موش وارد هر ۴ بازو شده باشد. در فاصله‌ی بین دورها، غذا جایگزین و ماز تمیز گردید.



شکل ۱. نمونه‌ی فتومیکروگراف‌هایی که از سطح Nucleus basalis of meynert (NBM) گرفته شده‌اند (۱/۳- میلی‌متر در پشت برگما) که بیانگر تخریب الکتریکی در هر دو نیم‌کره می‌باشند (بزرگ‌نمایی  $\times 4$ ).

گذاشته بود. جانورانی که دچار تخریب هسته‌ی NBM بودند، در آزمون اکتساب، در مقایسه با گروه شاهد تخریب، کاهش پاسخ‌های درست ( $F_{7,21} = 23/836, P < 0/001$ ) را نشان می‌دادند (شکل ۲- A). در حالی که گروه تخریب NBM، در آزمون یادآوری برای تعداد پاسخ صحیح، تفاوت معنی‌داری نسبت به موش‌های گروه شاهد تخریب نداشتند ( $F_{7,21} = 2/333, P = 0/122$ ).

تخریب الکتریکی NBM پیش از مرحله‌ی اکتساب، وظیفه‌ی حافظه‌ی کارکردی را در یادگیری مکان‌های پاداش در آزمون تعیین شده یا در به خاطر آوردن این که در مراحل قبلی در کدام بازوهای یک ماز وارد شده است، مختل ساخت. آزمون ANOVA نشان داد که کاهش در واکنش بعد از تخریب هسته‌ی NBM بسیار معنی‌دار بوده است ( $F_{7,21} = 41/859, P < 0/001$ ) (شکل ۲- B). جالب‌تر این که، در تخریب دو طرفه‌ی NBM، نقص‌ها و اختلالاتی در عملکرد حافظه‌ی کارکردی در آزمون یادآوری وجود داشت؛ به طوری که می‌توان بین گروه‌های تخریب و شاهد تخریب، تفاوت قابل شد ( $F_{7,21} = 18/791, P < 0/001$ ) (شکل ۲- B).

شکل ۲- C، میانگین خطاهای حافظه‌ی مرجع ناشی از تخریب دو طرفه‌ی NBM، در طول آزمایش ماز شعاعی هشت بازویی را

#### یافته‌ها

##### بافت‌شناسی تخریب NBM

مشخصه‌ی وجود تخریب، یک ناحیه‌ی بزرگ بدون سلول بود که در اطراف ناحیه‌ی آسیب دیده‌ی گلیوزیس قرار داشت. شکل ۱، فتومیکروگراف‌هایی از تخریب NBM را در ۱/۳- میلی‌متر پشت به ناحیه‌ی برگما نشان می‌دهد.

##### تأثیر تخریب دو طرفه‌ی NBM بر روی حافظه‌ی فضایی

مقایسه‌ی حافظه‌ی فضایی بین گروه‌های شاهد و شاهد تخریب در طول دوره‌ی آموزش و یادآوری برای چهار پارامتر مورد بررسی، دارای اختلاف معنی‌دار نبود. این نتیجه، نشان می‌دهد که ورود الکتروود به هسته‌ی NBM بدون القای جریان الکتریکی و بقیه‌ی مراحل جراحی نظیر بیهوشی، تأثیری بر میزان خطای حافظه‌ی فضایی موش‌های صحرائی در مقایسه با موش‌هایی که هسته‌ی NBM در آن‌ها به صورت دو طرفه تخریب شده است، ندارد.

بررسی‌ها نشان داد که تخریب با القای جریان الکتریکی در NBM، می‌تواند بر روند اکتساب و یادآوری حافظه‌ی فضایی تأثیر بگذارد (شکل ۲). تخریب دو طرفه‌ی NBM، بر تعداد کل انتخاب‌های درست موش‌ها در ماز شعاعی هشت بازویی تأثیر

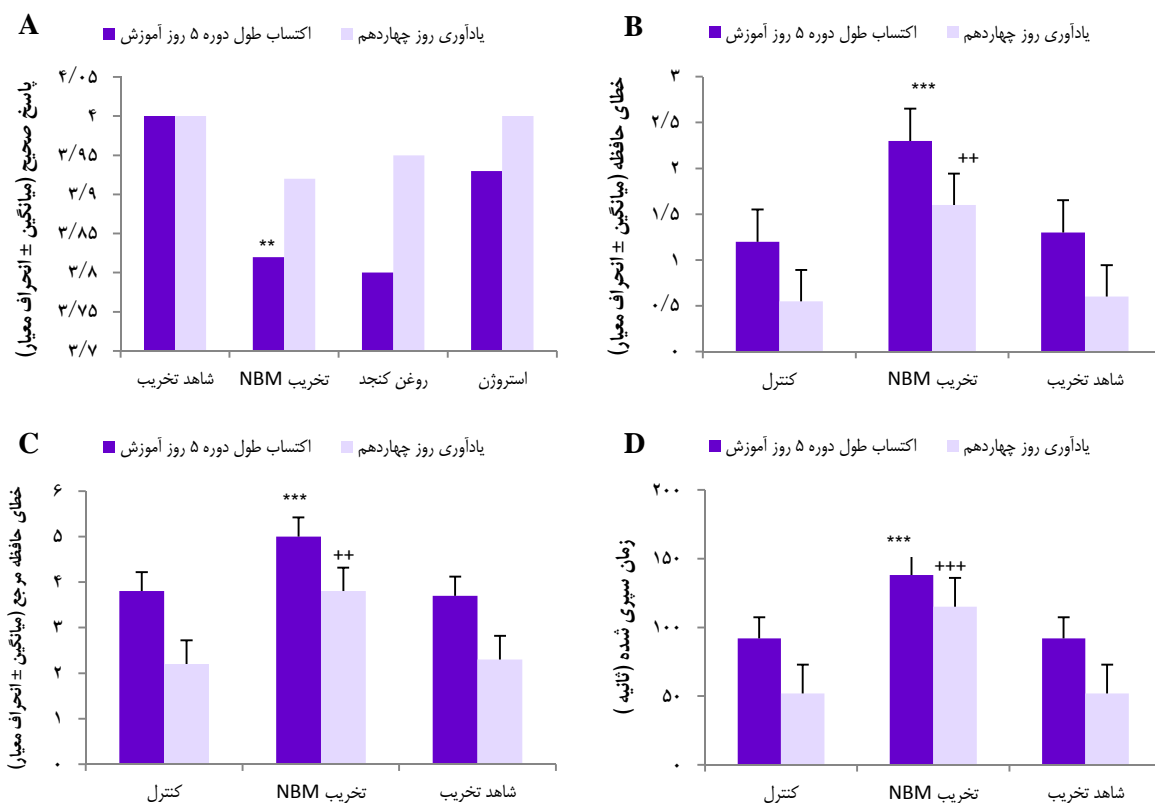
ناشی از تخریب NBM را تضعیف کرد؛ به طوری که موش‌های دارای تخریب هسته‌ی NBM، عملکرد مشابهی را مانند موش‌های گروه شاهد تخریب از خود نشان دادند. ANOVA تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها در پاسخ صحیح در آزمون اکتساب نشان داد ( $P < 0/001$ ). ( $F_{4,35} = 11/053$ ) (شکل ۳- A).

در حیواناتی که دچار تخریب NBM شده بودند، پس از آن که ۳۰ دقیقه پیش از آزمون تحت درمان با ۴۵ میکروگرم بر کیلوگرم E2 قرار گرفتند، عملکرد یافتن بازوی صحیح در طول آزمون یادآوری بهبود یافت؛ به گونه‌ای که عملکرد آن‌ها مشابه با گروه شاهد تخریب بود ( $P = 0/631$ ) (شکل ۳- A)، اما تجزیه و تحلیل ANOVA، تفاوت‌های آماری معنی‌داری را در میان گروه‌های تخریب و روغن کنجد از لحاظ تعداد پاسخ صحیح در آزمون یادآوری نشان نداد ( $F_{4,35} = 1/474$ ,  $P = 0/231$ ). شاید، با گذشت زمان در طی روزها، حیوانات دچار تخریب NBM، یاد گرفتند که چگونه بر واماندگی خود غلبه کنند؛ به گونه‌ای که در بعضی از دوره‌های آزمون، تعداد پاسخ صحیح آن‌ها نسبت به از قلم افتادن بازدید بازوها بیشتر شد.

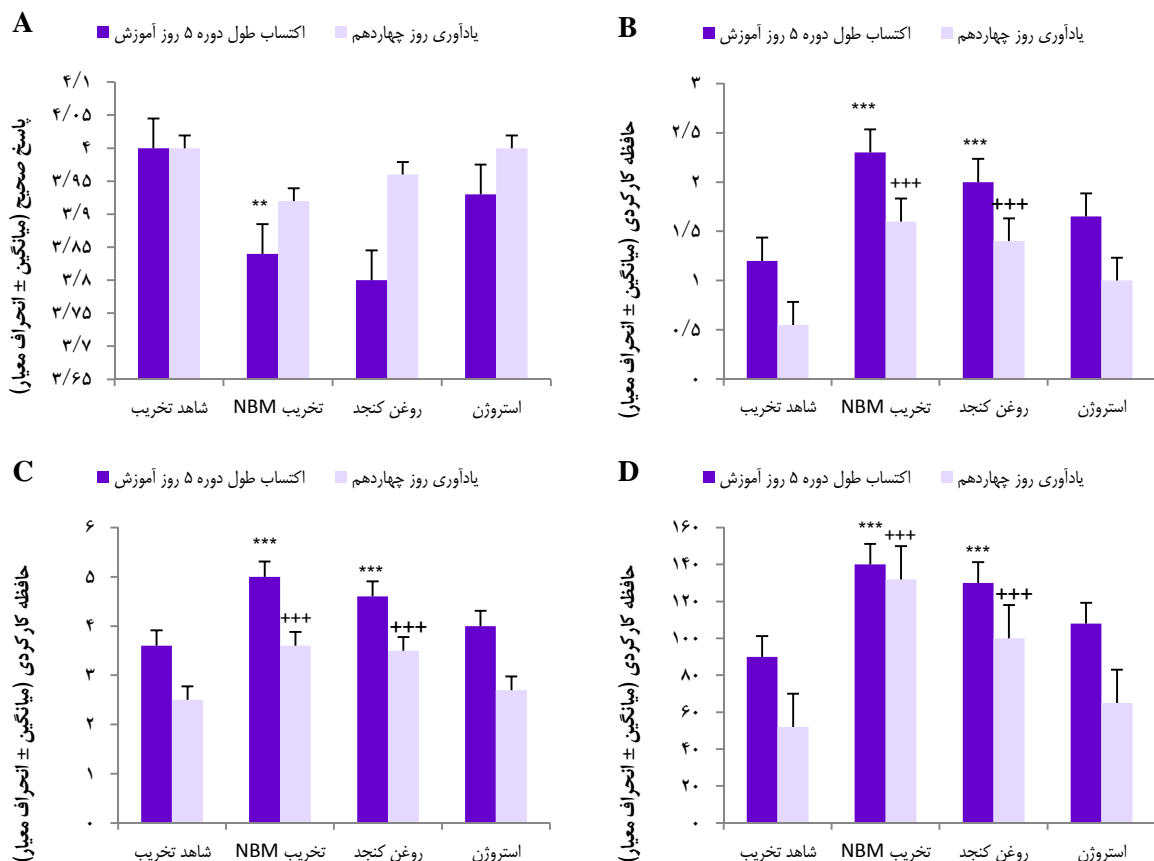
نشان می‌دهد. این تأثیر، ابتدا در اکتساب ( $P < 0/001$ )، سپس در طول آزمایش یادآوری مشاهده شد ( $F_{4,35} = 35/607$ ) و پس از آن تغییرات، این تغییرات، می‌تواند فرایند حافظه‌ی بلند مدت را تحت تأثیر قرار دهد. شکل ۲- D نشان می‌دهد که بین تخریب NBM و مدت زمان تأخیر برای انتخاب بازوها ارتباط وجود دارد. در نتیجه، تأثیر تخریب الکتریکی NBM بر زمان سپری شده در هر انتخاب در طول مرحله‌ی اکتساب ماز شعاعی، به طور معنی‌داری ( $F_{4,35} = 27/481$ ,  $P < 0/001$ ) متفاوت از گروه شاهد تخریب بود. این مشاهدات نشان داد که اختلال در موش‌های دچار تخریب برای به یادآوری آزمون همراه با تأخیر بود ( $F_{4,35} = 71/634$ ,  $P < 0/001$ ). این مدل برای استفاده به عنوان یک مدل آلزایمر موش، مناسب است.

### تأثیر درمان پس از تخریب NBM با استروژن در حیوانات مدل آلزایمر

استروژن درمانی پس از تخریب NBM و پیش از شروع آموزش، موجب بهبود وضعیت در هر دو آزمون اکتساب و یادآوری در هنگام مقایسه با گروه شاهد تخریب شد. استروژن، اختلالات ایجاد شده‌ی



شکل ۲. تأثیر تخریب دو طرفه‌ی Nucleus basalis of meynert (NBM) بر A- پاسخ صحیح؛ B- خطای حافظه‌ی کارکردی؛ C- خطای حافظه‌ی مرجع و D- زمان سپری شده در هر انتخاب. مقایسه‌ی میانگین ± انحراف معیار دوره‌ی ۵ روزه‌ی آموزش برای آزمون اکتساب و آزمون یادآوری روز چهاردهم در ماز شعاعی برای گروه‌های: شاهد، تخریب NBM و شاهد تخریب ( $n = 8$ ),  $***P < 0/001$ ,  $**P < 0/010$  در مقابل گروه شاهد تخریب در آزمون اکتساب،  $***P < 0/001$ ,  $**P < 0/010$  در مقابل گروه شاهد تخریب در آزمون یادآوری)



شکل ۳. تأثیر استروژن‌درمانی در موش مدل بیماری آلزایمر بر: **A**- تعداد پاسخ صحیح؛ **B**- خطای حافظه کارکردی؛ **C**- خطای حافظه مرجع و **D**- زمان سپری شده. مقایسه‌ی میانگین  $\pm$  انحراف معیار در جلسات آزمون اکتساب و یادآوری ماز شعاعی هشت بازویی برای گروه‌های شاهد تخریب، تخریب Nucleus basalis of meynert (NBM)، استروژن و روغن کنجد ( $n = 8$ ،  $^{***}P < 0/001$ ،  $^{**}P < 0/01$ ،  $^{*}P < 0/010$  در مقابل گروه شاهد تخریب در آزمون اکتساب  $^{**}P < 0/010$ ،  $^{***}P < 0/001$  در مقابل گروه شاهد تخریب در آزمون یادآوری)

آموزش را افزایش داد. کاربرد E2، تعداد خطاهای حافظه‌ی مرجع را در طول آزمایش کاهش داد، چنانچه عملکرد آن مشابه گروه شاهد تخریب در آزمون یادآوری ( $P = 0/629$ ) شد. E2 به میزان ۴۵ میکروگرم بر کیلوگرم، موجب کاهش معنی‌دار زمان عملکرد در هر انتخاب شد که این کاهش، بیانگر آن بود که E2 فعالیت حرکتی را افزایش داده است. پس، درمان پس از تخریب با دز بالای فیزیولوژیک E2، ممکن است قابلیت درمانی فوق‌العاده‌ای را برای درمان آسیب‌های مغزی و تحلیل عصبی مربوط به NBM داشته باشد. آزمون ANOVA بین گروه‌ها برای زمان سپری شده در مرحله‌ی اکتساب ( $F_{(3,35)} = 13/774$ ،  $P < 0/001$ ) و در یادآوری ( $P < 0/001$ )، اکتساب ( $F_{(3,35)} = 33/995$ ) معنی‌دار بود (شکل ۳- D). گروه تخریب NBM دریافت‌کننده‌ی E2 نسبت به گروه تخریب NBM، زمان کمتری را صرف کرد که مشابه با گروه شاهد تخریب در آزمون یادآوری ( $P = 0/724$ ) بود. در ضمن، روغن کنجد،

آزمون ANOVA نشان داد که یک تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها در حافظه‌ی کارکردی وجود داشت ( $F_{(3,35)} = 19/759$ ،  $P < 0/001$ ) (شکل ۳- B). بهبودی ناشی از استروژن، از جلسات اکتساب گرفته تا آزمون یادآوری روز چهاردهم در حیوانات دچار تخریب NBM، نشان داد که این ترکیب، موجب پیش‌گیری یا کاهش از بین رفتن سلول‌های عصبی در اثر تخریب شد و خطای حافظه‌ی کارکردی را کاهش داد ( $F_{(3,35)} = 16/926$ ،  $P < 0/001$ ) (شکل ۳- B)؛ به گونه‌ای که عملکرد آن مشابه با گروه شاهد تخریب بود ( $P = 0/213$ ). تجزیه و تحلیل آزمون ANOVA، تفاوت‌های آماری معنی‌داری را در حافظه‌ی مرجع در میان گروه‌ها در مرحله‌ی اکتساب و یادگیری ( $F_{(3,35)} = 21/77$ ،  $P < 0/001$ ) و در مرحله‌ی یادآوری ( $F_{(3,35)} = 21/419$ ،  $P < 0/001$ ) نشان داد (شکل ۳- C). تزریق E2، ۳۰ دقیقه قبل از آموزش به طور معنی‌داری عملکرد حافظه‌ی مرجع در طول دوره‌ی

بهبودی را افزایش می‌دهد (۲۱)، اما تأثیر محافظت‌کننده‌ی E2 هنگامی که پیش از القای آسیب تجویز شود، همانند سطح فیزیولوژیک در گردش هورمون عمل می‌کند (۴۴). مطالعات کمی تا به امروز به بررسی تأثیر زمان درمان با استروژن در یک دز بالای فیزیولوژیک بعد از ایجاد تخریب پرداخته است. استروژن‌درمانی با دز بالای ۴۵ میکروگرم بر کیلوگرم پس از تخریب NBM، ۳۰ دقیقه قبل از آموزش در دستگاه ماز شعاعی هشت بازویی هم‌اکتساب را از طریق سرعت بخشیدن به یادگیری بهتر کرد و هم اختلالات ایجاد شده‌ی ناشی از تخریب را در یادآوری روز چهاردهم در موش‌هایی با توانایی یادگیری اولیه‌ی کم بهبود بخشید که البته این حاکی از مشارکت پایدار استروژن در تثبیت حافظه‌های کارکردی و مرجع است (شکل ۳).

E2 عملکرد موش‌های نر مسن در ماز شعاعی هشت بازویی را بهبود می‌بخشد (۴۵). Hasegawa و همکاران نیز اعلام کردند که E2 عملکرد حافظه را روزانه، از طریق گردش خون تحت تأثیر قرار می‌دهد (۴۶).

استروژن، اغلب به شکل E2 می‌تواند فیزیولوژی سیناپسی نورون‌ها را ظرف چند دقیقه تغییر دهد (۴۷). نقش اصلی E2 افزایش تراکم گیرنده‌های N-methyl-D-aspartate (NMDA) یا بهترین محدوده‌ی فعالیت رفتاری شناخته شده و تأثیرگذار برای گیرنده‌های NMDA و استروژن، در حافظه‌ی فضایی می‌باشد (۴۸). E2 به سرعت Long-term potentiation (LTP) را افزایش می‌دهد (کمتر از ۳۰ دقیقه) که این بیانگر پیام‌رسانی از طریق غشا می‌باشد (۴۹). تجویز E2، تراکم خارها را در هیپوکامپ و قاعده‌ی مغز جلویی ظرف ۳۰ دقیقه زیاد می‌کند؛ یک دوره‌ی زمانی که همراه با افزایش تثبیت حافظه‌ی شناختی توسط استروژن می‌باشد (۲۷).

نتیجه‌گیری نهایی این که تخریب دو طرفه‌ی NBM می‌تواند به عنوان مدل مناسبی جهت بیماری آلزایمر در حیوانات آزمایشگاهی مورد استفاده قرار گیرد. با تجویز E2 می‌توان تا حدودی عوارض ناشی از تخریب NBM را کاهش داد. به نظر می‌رسد، استروژن می‌تواند از طریق گیرنده‌های غشایی، موجب اثرات سریع و با واسطه‌ی گیرنده‌های داخل سلولی باعث اثرات دراز مدت در بهبود فرایندهای یادگیری و حافظه گردد. بنا بر این، استروژن‌درمانی را می‌توان به عنوان یک روش جهت بهبود علائم آلزایمر پیشنهاد نمود.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز که در اجرای طرح پژوهشی حاضر مساعدت نمودند، تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

تأثیر معنی‌داری بر بهبود یادگیری و حافظه‌ی ناشی از تخریب NBM موش‌های مدل آلزایمر ایجاد نکرد.

### بحث

برای فهم فرایندهای تحلیل عصبی به دنبال تخریب مسیر کولینرژیک و مکانیسم‌های جبرانی احیاکننده، تخریب نورون‌های کولینرژیک در NBM پیشنهاد می‌شود (۳۴، ۲۰). ماز شعاعی هشت بازویی برای آزمون توانایی تفکیک الگوی دستوری زمانی-فضایی (۳۵)، در بسیاری از مطالعات مربوط به حافظه و یادگیری، از جمله نظیر مطالعاتی که از E2 استفاده می‌کنند، کاربرد دارد (۲۷).

در تحقیق کنونی، در طول آزمون اکتساب و یادآوری، موش‌های دچار تخریب NBM، اختلالات بیشتری همچون زمان طولانی برای انجام آزمون، حواس‌پرتی و خواب‌آلودگی را نسبت به گروه شاهد تخریب از خود نشان دادند. نتایج نشان‌داد که تخریب الکتریکی دو طرفه‌ی NBM پیش از آموزش، بر اکتساب و همچنین یادآوری روز چهاردهم ماز شعاعی هشت بازویی تأثیر گذاشت (شکل ۲).

NBM در مراحل اولیه‌ی یادگیری نقش مهمی را بر عهده دارد (۳۶-۳۷). همچنین، تخریب NBM می‌تواند فعالیت قشری را که برای تثبیت حافظه ضروری است، کاهش دهد (۳۸). هسته‌ی NBM در حفظ و نگهداری اطلاعات حافظه‌ی کارکردی و نیز ذخیره‌ی اطلاعات حافظه‌ی مرجع نقش دارد. فعالیت کولینرژیک قشری NBM، در طول مراحل اولیه‌ی اکتساب حافظه‌ی کارکردی و ذخیره‌ی میان مدت حافظه‌ی مرجع و تا کامل شدن مراحل آزمون دارای اهمیت است (۳۹-۴۰).

تخریب گسترده‌ی کولینرژیک NBM، موجب اختلالات شدید در بعضی از پارامترها برای مثال کاهش دقت، افزایش معنی‌دار در اشتباهات، به خصوص افزایش مشکل در تشخیص پیام‌های صحیح، تأخیر در انتخاب درست و اختلال در الگوی پاسخ‌دهی می‌شود (۲۴). تخریب یک طرفه و دو طرفه‌ی NBM موجب کاهش کولین استیل ترانسفراز (ChAT یا Choline acetyltransferase) در اجسام سلولی نورون‌های NBM و کاهش واکنش‌پذیری استیل کولین استراز (AChE) یا Acetylcholinesterase می‌شود (۴۱). جالب این است که در NBM تعداد A Tropomyosin receptor kinase (trkA) و p75 neurotrophin receptor (p75NTR) محتوی نورون‌ها که ChAT را جمع‌آوری می‌کنند، در مغزهای مبتلا به آلزایمر که پیش از درمان با استروژن کاهش را نشان می‌دهند (۴۲)، با استفاده از استروژن، تعدیل می‌شوند (۴۳).

درمان با دز بالای فیزیولوژیک E2 به صورت تجویز حاد بعد از آسیب مغزی، مرگ سلولی را کاهش و محافظت عصبی و سرعت

## References

- Iadecola C, Anrather J. Stroke research at a crossroad: asking the brain for directions. *Nat Neurosci* 2011; 14(11): 1363-8.
- Thathiah A, de Strooper B. G protein-coupled receptors, cholinergic dysfunction, and A $\beta$  toxicity in Alzheimer's disease. *Sci Signal* 2009; 2(93): 8.
- Hardenacke K, Kuhn J, Lenartz D, Maarouf M, Mai JK, Bartsch C, et al. Stimulate or degenerate: deep brain stimulation of the nucleus basalis Meynert in Alzheimer dementia. *World Neurosurg* 2013; 80(3-4): S27-S43.
- Fisher A. Cholinergic modulation of amyloid precursor protein processing with emphasis on M1 muscarinic receptor: perspectives and challenges in treatment of Alzheimer's disease. *J Neurochem* 2012; 120(Suppl 1): 22-33.
- Nyakas C, Granic I, Halmy LG, Banerjee P, Luiten PG. The basal forebrain cholinergic system in aging and dementia. Rescuing cholinergic neurons from neurotoxic amyloid-beta42 with memantine. *Behav Brain Res* 2011; 221(2): 594-603.
- Ovsepian SV, Herms J. Drain of the brain: low-affinity p75 neurotrophin receptor affords a molecular sink for clearance of cortical amyloid beta by the cholinergic modulator system. *Neurobiol Aging* 2013; 34(11): 2517-24.
- Auld DS, Kornecook TJ, Bastianetto S, Quirion R. Alzheimer's disease and the basal forebrain cholinergic system: Relations to beta-amyloid peptides, cognition, and treatment strategies. *Prog Neurobiol* 2002; 68(3): 209-45.
- Abraham IM, Koszegi Z, Tolod-Kemp E, Szego EM. Action of estrogen on survival of basal forebrain cholinergic neurons: promoting amelioration. *Psychoneuroendocrinology* 2009; 34(Suppl 1): S104-S112.
- Raghanti MA, Simic G, Watson S, Stimpson CD, Hof PR, Sherwood CC. Comparative analysis of the nucleus basalis of Meynert among primates. *Neuroscience* 2011; 184: 1-15.
- Dumas JA, Newhouse PA. The cholinergic hypothesis of cognitive aging revisited again: cholinergic functional compensation. *Pharmacol Biochem Behav* 2011; 99(2): 254-61.
- Sarter M, Gehring WJ, Kozak R. More attention must be paid: the neurobiology of attentional effort. *Brain Res Rev* 2006; 51(2): 145-60.
- Hasselmo ME, Sarter M. Modes and models of forebrain cholinergic neuromodulation of cognition. *Neuropsychopharmacology* 2011; 36: 52-73.
- Newhouse P, Dumas J. Estrogen-cholinergic interactions: Implications for cognitive aging. *Horm Behav* 2015; 74: 173-85.
- Daniel JM. Estrogens, estrogen receptors, and female cognitive aging: the impact of timing. *Horm Behav* 2013; 63(2): 231-7.
- McClure RE, Barha CK, Galea LA. 17beta-Estradiol, but not estrone, increases the survival and activation of new neurons in the hippocampus in response to spatial memory in adult female rats. *Horm Behav* 2013; 63(1): 144-57.
- Miller MM, Hyder SM, Assayag R, Panarella SR, Tousignant P, Franklin KB. Estrogen modulates spontaneous alternation and the cholinergic phenotype in the basal forebrain. *Neuroscience* 1999; 91(3): 1143-53.
- Ishunina TA, Swaab DF. Increased expression of estrogen receptor alpha and beta in the nucleus basalis of Meynert in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2001; 22(3): 417-26.
- Yue X, Lu M, Lancaster T, Cao P, Honda S, Staufenbiel M, et al. Brain estrogen deficiency accelerates A $\beta$  plaque formation in an Alzheimer's disease animal model. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102(52): 19198-203.
- Gibbs RB. Estrogen therapy and cognition: a review of the cholinergic hypothesis. *Endocr Rev* 2010; 31(2): 224-53.
- Szigeti C, Bencsik N, Simonka AJ, Legradi A, Kasa P, Gulya K. Long-term effects of selective immunolesions of cholinergic neurons of the nucleus basalis magnocellularis on the ascending cholinergic pathways in the rat: a model for Alzheimer's disease. *Brain Res Bull* 2013; 94: 9-16.
- Inagaki T, Etgen AM. Neuroprotective action of acute estrogens: animal models of brain ischemia and clinical implications. *Steroids* 2013; 78(6): 597-606.
- Davis CP, Franklin LM, Johnson GS, Schrott LM. Prenatal oxycodone exposure impairs spatial learning and/or memory in rats. *Behav Brain Res* 2010; 212(1): 27-34.
- MacLusky N, Luine VN, Hajszan T, Leranath C. The 17 $\alpha$  and 17 $\beta$  isomers of estradiol both induce rapid spine synapse formation in the CA1 hippocampal subfield of ovariectomized female rats. *Endocrinology* 2013; 146(1): 287-93.
- Montero-Pastor A, Vale-Martinez A, Guillazo-Blanch G, Marti-Nicolovius M. Effects of electrical stimulation of the nucleus basalis on two-way active avoidance acquisition, retention, and retrieval. *Behav Brain Res* 2004; 154(1): 41-54.
- Moazedi AA, Moosavi M, Chinipardaz R. The Effect of estrogen on passive avoidance memory in an experimental model of Alzheimer's disease in male rats. *Physiol Pharmacol* 2011, 14(4): 416-25.
- White NM, Milner PM. The psychobiology of reinforcers. *Annu Rev Psychol* 1992; 43: 443-71.
- Luine VN, Frankfurt M. Estrogens facilitate memory processing through membrane mediated mechanisms and alterations in spine density. *Front Neuroendocrinol* 2012; 33(4): 388-402.
- Cosquer B, Vasconcelos AP, Frohlich J, Cassel JC. Blood-brain barrier and electromagnetic fields: effects of scopolamine methylbromide on working memory after whole-body exposure to 2.45 GHz microwaves in rats. *Behav Brain Res* 2005; 161(2): 229-37.
- Bayat M, Baluchnejadmojarad T, Roghani M, Goshadrou F, Ronaghi A, Mehdizadeh M. Netrin-1 improves spatial memory and synaptic plasticity impairment following global ischemia in the rat. *Brain Res* 2012; 1452: 185-94.



30. Baddeley A. Working memory: Looking back and looking forward. *Nature Reviews Neuroscience* 2003; 4(10): 829-39.
31. Verhaeghen P, Marcoen A, Goossens L. Facts and fiction about memory aging: A quantitative integration of research findings. *J Gerontol* 1993; 48(4): 157-71.
32. White NM, McDonald RJ. Multiple parallel memory systems in the brain of the rat. *Neurobiol Learn Mem* 2002; 77(2): 125-84.
33. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 6<sup>th</sup> ed. Cambridge, MA: Academic Press; 2007.
34. Rafii MS, Aisen PS. Advances in Alzheimer's disease drug development. *BMC Medicine* 2015; 13: 62.
35. Paleja M, Girard TA, Herdman KA, Christensen BK. Two distinct neural networks functionally connected to the human hippocampus during pattern separation tasks. *Brain Cogn* 2014; 92C: 101-11.
36. Murray CL, Fibiger HC. Learning and memory deficits after lesions of the nucleus basalis magnocellularis: reversal by physostigmine. *Neuroscience* 1985; 14(4): 1025-32.
37. Miranda MI, Bermudez-Rattoni F. Reversible inactivation of the nucleus basalis magnocellularis induces disruption of cortical acetylcholine release and acquisition, but not retrieval, of aversive memories. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96(11): 6478-82.
38. Sos-Hinojosa H, Guillazo-Blanch G, Vale-Martinez A, Nadal R, Morgado-Bernal I, Marti-Nicolovius M. Parafascicular electrical stimulation attenuates nucleus basalis magnocellularis lesion-induced active avoidance retention deficit. *Behav Brain Res* 2003; 144(1-2): 37-48.
39. Givens B, Olton DS. Local modulation of basal forebrain: effects on working and reference memory. *J Neurosci* 1994; 14(6): 3578-87.
40. Durkin TP, Cazala P, Garcia R. Transynaptic mechanisms controlling cholinergic neuronal activation in the septohippocampal and nBM-cortical pathways: differential roles in memory and attentional processes? In: Numan R, editor. *The behavioral neuroscience of the septal region*. Berlin, Germany: Springer Science and Business Media; 2000. p. 146-74.
41. Sabbatini M, Coppi G, Maggioni A, Olgiate V, Panocka I, Amenta F. Effect of lesions of the nucleus basalis magnocellularis and of treatment with posatirelin on cholinergic neurotransmission enzymes in the rat cerebral cortex. *Mech Ageing Dev* 1998; 104(2): 183-94.
42. Mufson EJ, Counts SE, Fahnstock M, Ginsberg SD. Cholinergic molecular substrates of mild cognitive impairment in the elderly. *Curr Alzheimer Res* 2007; 4(4): 340-50.
43. Bora SH, Liu Z, Kecojovic A, Merchenthaler I, Koliatsos VE. Direct, complex effects of estrogens on basal forebrain cholinergic neurons. *Exp Neurol* 2005; 194(2): 506-22.
44. Perez-Alvarez MJ, Maza MC, Anton M, Ordonez L, Wandosell F. Post-ischemic estradiol treatment reduced glial response and triggers distinct cortical and hippocampal signaling in a rat model of cerebral ischemia. *J Neuroinflammation* 2012; 9: 157.
45. Bimonte HA, Hyde LA, Hoplight BJ, Denenberg VH. In two species, females exhibit superior working memory and inferior reference memory on the water radial-arm maze. *Physiol Behav* 2000; 70(3-4): 311-7.
46. Hasegawa Y, Hojo Y, Kojima H, Ikeda M, Hotta K, Sato R, et al. Estradiol rapidly modulates synaptic plasticity of hippocampal neurons: Involvement of kinase networks. *Brain Res* 2015; 1621: 147-61.
47. Woolley CS. Acute effects of estrogen on neuronal physiology. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2007; 47: 657-80.
48. Wilson IA, Puolivali J, Heikkinen T, Riekkinen P. Estrogen and NMDA receptor antagonism: effects upon reference and working memory. *Eur J Pharmacol* 1999; 381(2-3): 93-9.
49. Roepke TA, Ronnekleiv OK, Kelly MJ. Physiological consequences of membrane-initiated estrogen signaling in the brain. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2011; 16: 1560-73.

## Effects of Estrogen Therapy on Cognitive Performance Deficit Induced by Nucleus Basalis Magnocellularis Lesion: Animal Model of Alzheimer's Disease

Neda Dabir<sup>1</sup>, Ahmadali Moazedi<sup>2</sup>, Abbas Haghparast<sup>2</sup>, Lotfollah Khajepour<sup>4</sup>,  
Mohammadreza Akhoond<sup>5</sup>

### Original Article

#### Abstract

**Background:** Cognitive performance appears to diminish with age and passing of time, probably due to the basal forebrain cholinergic dysfunction. Given the physiological significance of the acute effect of estrogen, this study was conducted aiming to investigate the effect of 17 $\beta$ -estradiol treatment on cognitive performance in nucleus basalis magnocellularis (NBM) induced lesions.

**Methods:** In this experimental study, 40 adult male Wistar rats were divided into five different groups (8 rat in each group): Control (intact), NBM lesion group, which received electrically-induced lesion (0.5 mA, 3s) in NBM, Sham group (the electrode was impaled into the NBM with no lesion), Estrogen group (lesion + 45 $\mu$ g/kg 17 $\beta$ -estradiol) and Vehicle group (NBM lesion + 200 $\mu$ l sesame oil). Acquisition and retention testing was done using an eight-radial arm maze, in which, the patterns of arm entries in each group was recorded for calculating correct choices, working memory errors, reference memory errors and latency.

**Findings:** Bilateral NBM lesion showed the reduction of spatial memory acquisition in the form of increased working and reference memory errors ( $P < 0.001$ ). It further reduced these functions in retention testing ( $P < 0.001$ ) compared to the control group. Post-lesion treatment with 45 $\mu$ g/kg estrogen improved the parameters of spatial memory errors in the acquisition and retention tasks comparing to the Sham group ( $P > 0.05$ ).

**Conclusion:** Electrical NBM lesion can reduce spatial memory function. Estrogen therapy after brain injury improved cognitive disorder.

**Keywords:** Alzheimer's disease, Basal forebrain, Cognitive performance, Nucleus basalis magnocellularis, Estrogen therapy

**Citation:** Dabir N, Moazedi A, Haghparast A, Khajepour L, Akhoond M. Effects of Estrogen Therapy on Cognitive Performance Deficit Induced by Nucleus Basalis Magnocellularis Lesion: Animal Model of Alzheimer's Disease. J Isfahan Med Sch 2016; 34(370): 64-73

1- PhD Student, Department of Biology, School of Sciences, Shahid Chamran University, Ahwaz, Iran

2- Professor, Department of Biology, School of Sciences, Shahid Chamran University, Ahwaz, Iran

3- Professor, Neuroscience Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4- Associate Professor, Department of Biology, School of sciences, Shahid Chamran University, Ahwaz, Iran

5- Assistant Professor, Department of Statistics, School of Mathematical Science and Computer, Shahid Chamran University, Ahwaz, Iran

**Corresponding Author:** Neda Dabir, Email: dabir.bio@gmail.com