



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه علوم پزشکی  
و خدمات بهداشتی درمانی کرمان

دانشکده پزشکی

پایان نامه مقطع دکتری تخصصی رشته فیزیولوژی انسانی

عنوان

بررسی نقش مسیرهای ژنومیک و غیرژنومیک استروئیدهای جنسی زنانه و تعیین  
نوع گیرنده دخیل در حفاظت عصبی بعد از جراحی تروماتیک مغزی در موش‌های  
صحرائی ماده

توسط

لادن امیرخسروی

استاد راهنما

دکتر محمد خاکساری

اساتید مشاور

دکتر نادر شاه‌رخی | دکتر وحید شیبانی | دکتر زهرا سلطانی

سال تحصیلی (بهمن ۹۹)

شماره پایان نامه: (۵۸۰)



دانشگاه علوم پزشکی کرمان  
مدیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه

بسمه تعالی  
صورتجلسه دفاع از پایان نامه

تاریخ: ۹۹/۱۱/۱۵  
شماره: ۱۴۰۳/۵۸۰  
کد اخلاق: ۹۵۰۰۰۳۵۱

جلسه دفاعیه پایان نامه تحصیلی خانم لادن امیرخسروی دانشجوی دکتری تخصصی (Ph.D) رشته فیزیولوژی پزشکی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان تحت عنوان " نقش مسیره‌های ژنومیک و غیر ژنومیک استروئیدهای جنسی زنانه و تعیین نوع گیرنده دخیل در حفاظت عصبی بعد از جراحت تروماتیک مغزی در موش های صحرایی ماده " در ساعت ۱۲ روز چهارشنبه مورخ ۹۹/۱۱/۱۵ با حضور اعضای محترم هیات داوران به شرح ذیل:

امضا	نام و نام خانوادگی	سمت
	جناب آقای دکتر محمد خاکساری	الف: استاد راهنما
	جناب آقای دکتر نادر شاهرخی	ب: استادان مشاور
	جناب آقای دکتر وحید شبیانی <i>دکتر مجید شبیانی</i>	
	جناب آقای دکتر سعید کارآموزیان	ج: عضو هیات داوران (داخلی)
	جناب آقای دکتر غلامرضا سپهری	ح: عضو هیات داوران (داخلی)
	جناب آقای دکتر علیرضا سرکانی	د: عضو هیات داوران (خارجی)
	جناب آقای دکتر بهرام بیبک	ذ: عضو هیات داوران (خارجی)
	سرکار خانم دکتر حمیده بشیری	ه: نماینده تحصیلات تکمیلی

تشکیل گردید و ضمن ارزیابی به شرح پیوست با درجه عالی و نمره ۱۹/۹۱ مورد تأیید قرار گرفت.

مهر و امضاء معاون آموزشی



### اظهارنامه (مربوط به انتشار رساله / پایان نامه)

اینجانب **لادن امیرخسروی** دانشجوی دکتری تخصصی رشته فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان نویسنده پایان نامه بررسی نقش مسیرهای ژنومیک و غیرژنومیک استروئیدهای جنسی زنانه و تعیین نوع گیرنده دخیل در حفاظت عصبی بعد از جراحی تروماتیک مغزی در موش‌های صحرایی ماده تحت راهنمایی دکتر محمد خاکساری متعهد می‌شوم:

تحقیقات در این رساله /پایان نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است. در استفاده از نتایج پژوهش‌های محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد کرده‌ام. مطالب مندرج در رساله /پایان نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نگردیده است.

کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه علوم پزشکی کرمان است. مقالات مستخرج با نام « دانشگاه علوم پزشکی کرمان » و یا «Kerman University of Medical Sciences» به چاپ خواهد رسید. حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی رساله /پایان نامه تأثیرگذار بوده اند را در مقالات مستخرج از رساله /پایان نامه رعایت کنم و در تمامی آنها نام استاد(ان) راهنما به عنوان نویسنده مسئول و نیز نام استاد(ان) مشاور و نشانی الکترونیکی دانشگاهی آنان را قید نمایم. در کلیه مراحل انجام این رساله /پایان نامه، در مواردی که به حوزه داده‌ها شخصی افراد دسترسی داشته یا از آنها استفاده کرده‌ام، اصل رازداری، ضوابط و اصول اخلاق پژوهشی را رعایت نموده‌ام.

امضای دانشجو

تاریخ ۱۳۹۹/۱۱/۱۵

#### مالکیت نتایج و حق نشر

کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، کتاب، برنامه‌های رایانه‌ای، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده) متعلق به دانشگاه علوم پزشکی کرمان می‌باشد. این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوط ذکر شود.

استفاده از داده‌ها و نتایج موجود در رساله /پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نیست.

سپاس بی نهایت خدای را که دریای بی منتهای بخشش است و بال فضل بر کائنات گسترده و با منت خود مرا به زینت ایمان آراسته و در خیمه لطف منزل داده است. چگونه شکر او را گوئیم که منت بر من تمام کرده و از سر رحمت خود، مرا در زمره جویندگان علم و دانش قرار داده است.

در این رهگذر بعد از حمد و ستایش خداوند متعال که به من توفیق انجام این پژوهش را عطا فرمود، بر خود لازم می دانم به پاس کلام "من لم یشکر المخلوق لم یشکر الخالق" با تواضع تام و از صمیم قلب از استاد راهنمای گرانقدر و فرزانه جناب آقای دکتر خاکساری که در مراحل مختلف این پایانامه همواره با سعه صدر و گشاده رویی در کنار من بودند و در طول مدت تحصیل از راهنمایی های اخلاقی و علمی ایشان بهره جسته ام تشکر و قدردانی نمایم و آرزوی توفیق الهی و بهروزی را برای ایشان خواستارم.

از اساتید مشاورم جناب آقای دکتر شاهرخی و جناب آقای دکتر شیبانی و سرکار خانم دکتر سلطانی به خاطر همه تلاش ها و محبت هایشان صمیمانه تشکر می کنم.

در امر داوری از اساتید گرانقدر:

جناب آقای دکتر علیرضا سرکاکلی از دانشگاه علوم پزشکی اهواز

جناب آقای دکتر بهرام بیباک از دانشگاه علوم پزشکی بجنورد

جناب آقای دکتر سعید کاراموزیان

جناب آقای دکتر غلامرضا سپهری

که زحمت داوری این پایان نامه را قبول فرمودند قدردانی نموده و برایشان آرزوی سلامتی و طول عمر دارم.

و این پایان نامه را با عشق تقدیم می کنم: به محضر ارزشمند پدر بزرگوار و مادر مهربانم که هر لحظه وجودم را از چشمه سارپراز عشق چشمانشان سیراب می کنند و در سختی ها و دشواری های زندگی همواره یآوری دلسوز و فداکارو پشتیبانی محکم و مطمئن برایم بوده اند و با مهربانی چگونه زیستن را به من آموخته اند.

و تقدیم به همسر عزیز و محترم و بزرگووارم جناب آقای دکتر امیری، به آن که سایبان عشق و آرامش و تکیه گاه امن و آسایش و برترین آموزگار خوش بینی و امید من در دوران تحصیل بود تشکر و قدردانی می نمایم به پاس محبت و زحمات بی دریغش.

و به فرزند دلبندم، دختر عزیزم

گل خوشبوی زندگیمان به طراوت شبنم امید بخش جانم که آسایش او آرامش من است. که صبورانه و صادقانه من را همراهی نموده است تا بتوانم در کمال آرامش و آسایش به تهیه و تنظیم پایان نامه پردازم.

و برادران مهربانم که همیشه حامی و پشتیبان بنده بوده اند

بوسه بر دستان پرمهرتان

## فهرست مندرجات

عنوان	صفحه
فهرست جداول .....	ل
فهرست شکل‌ها .....	م
فهرست نمودارها .....	س
چکیده .....	

### فصل اول: مقدمه و اهداف

۱-۱- مقدمه .....	Error! Bookmark not defined.
۱-۲- اهداف كلي طرح .....	Error! Bookmark not defined.
۱-۳- اهداف اختصاصي يا ویژه طرح .....	Error! Bookmark not defined.
۱-۴- اهداف کاربردي طرح .....	Error! Bookmark not defined.
۱-۵- فرضيات يا سؤالات پژوهش (با توجه به اهداف طرح) .....	Error! Bookmark not defined.

### فصل دوم: بررسی متون

۲-۱- کلیات .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
۲-۱-۱- آسیب مغزی تروماتیک .....	Error! Bookmark not defined.
۲-۱-۲- آسیب اولیه و ثانویه در TBI .....	Error! Bookmark not defined.
۲-۲- مکانیسم‌های پاتوفیزیولوژیک در TBI .....	Error! Bookmark not defined.
۲-۳-۱- پروژستین‌ها .....	Error! Bookmark not defined.
۲-۳-۱-۱- اثرات حفاظت نورونی پروژسترون .....	Error! Bookmark not defined.



الف - مدل های حیوانی TBI استفاده شده برای مطالعه اثر حفاظت نورونی پروژسترون .. Error! Bookmark not defined.

ب - مطالعات انسانی TBI استفاده شده برای مطالعه اثر حفاظت نورونی پروژسترون Error! Bookmark not defined.

۲-۳-۱-۲- اثر پروژسترون بر پیامدهای عملی در TBI.....۲۲

۲-۳-۱-۳- گیرنده های در گیر در مکانیسم اثر پروژسترون ..... Error! Bookmark not defined.

ج - گیرنده های پروژسترون داخل سلولی (PR) ..... Error! Bookmark not defined.

د - گیرنده های پروژسترون تنها عوامل رونویسی هسته ای نیستند ..... Error! Bookmark not defined.

ه - حفاظت نورونی وابسته به گیرنده پروژسترون پس از آسیب های مغزی .. Error! Bookmark not defined.

و - PGRMC1 ..... Error! Bookmark not defined.

ز - گیرنده های غشایی پروژسترون (mPR) ..... Error! Bookmark not defined.

۲-۳-۱-۴- مکانیسم های حفاظت نورونی پروژسترون ..... Error! Bookmark not defined.

۲-۳-۲- استروژن ها ..... Error! Bookmark not defined.

۲-۳-۲-۱- اثرات حفاظت نورونی استروژن ..... Error! Bookmark not defined.

۲-۳-۲-۲- گیرنده های درگیر در مکانیسم اثر استروژن ..... Error! Bookmark not defined.

ج - گیرنده های استروژن داخل سلولی (ERs) ..... Error! Bookmark not defined.

ط - GPER (G-protein estrogen receptor) ..... Error! Bookmark not defined.

۲-۳-۲-۳- استروژن، حافظه و شناخت ..... Error! Bookmark not defined.

۲-۳-۲-۴- مکانیسم های حفاظت نورونی استروژن ..... Error! Bookmark not defined.

۳-۱- مواد و دستگاه‌های مورد استفاده در مطالعه ..... Error! Bookmark not defined.

۳-۲- مشخصات ابزار جمع‌آوری داده‌های پژوهش و چگونگی آن ..... Error! Bookmark not defined.

۳-۳- نوع مطالعه ..... Error! Bookmark not defined.

۳-۴- جامعه مورد مطالعه ..... Error! Bookmark not defined.

۳-۴-۱- گروه بندی حیوانات ..... Error! Bookmark not defined.

۳-۴-۲- روش محاسبه حجم نمونه و تعداد آن (با ذکر تمام پارامترهای مورد استفاده و مراجع آن) ..... Error!

Bookmark not defined.

۳-۵- روش‌های اجرای پژوهش ..... Error! Bookmark not defined.

۳-۵-۱- روش برداشتن دو طرفه تخمدان‌ها (Ovariectomy) ..... Error! Bookmark not defined.

۳-۵-۲- روش آماده‌سازی، اعمال جراحی و روش ایجاد ضربه مغزی منتشر ..... Error! Bookmark not defined.

۳-۶- ارزیابی شاخص‌ها ..... Error! Bookmark not defined.

۳-۶-۱- روش اندازه‌گیری نفوذ پذیری عروق یا روش سنجش سلامت سد خونی - مغزی .. Error! Bookmark

not defined.

۳-۶-۲- اندازه‌گیری خیز مغزی ..... Error! Bookmark not defined.

۳-۶-۳- ارزیابی پیامد نورولوژیک (veterinary coma scale, VCS) ..... Error! Bookmark not defined.

۳-۶-۴- ارزیابی پیامد هیستوپاتولوژیک ..... Error! Bookmark not defined.

۳-۶-۵- اندازه‌گیری میزان پروتئین‌های PI3K و P-Akt در بافت مغزی به روش وسترن بلات ..... Error!

Bookmark not defined.

۳-۶-۵-۱- محلول‌ها و بافرهای مورد استفاده ..... Error! Bookmark not defined.

۳-۶-۵-۲- استخراج پروتئین ..... Error! Bookmark not defined.

Error! Bookmark not defined. .... اندازه گیری غلظت پروتئین ۳-۶-۵-۳

Error! Bookmark not defined. .... آماده سازی ژل SDS-پلی آکریل آمید و الکتروفورز نمونه ها ۳-۶-۵-۴

Error! Bookmark not defined. .... بلاتینگ ۳-۶-۵-۵

Error! Bookmark not defined. .... مسدود کردن (بلاکینگ) ۳-۶-۵-۶

Error! Bookmark not defined. .... ارزیابی فشار داخل مجسمه ای (ICP) ۳-۶-۶

Error! Bookmark not defined. .... ارزیابی فشار پرفیوژن مغز (CPP) ۳-۶-۷

Error! Bookmark not defined. .... ارزیابی عملکرد تعادلی وضعیتی ۳-۶-۸

Error! Bookmark not defined. .... آزمون های ارزیابی رفتاری طولانی مدت ۳-۶-۹

Error! Bookmark not defined. .... آزمون جعبه باز (Open field) ۳-۶-۹-۱

Error! Bookmark not defined. .... ماز بعلاوه مرتفع (EPM) ۳-۶-۹-۲

Error! Bookmark not defined. .... ماز آبی موریس (MWM) ۳-۶-۹-۳

Error! Bookmark not defined. .... تجزیه و تحلیل آماری ۳-۸

### فصل چهارم: نتایج

Error! Bookmark not defined. .... اثر پروژسترون و آنتاگونیست گیرنده آن بر محتوای آب مغز: خیز مغزی ..... defined.

Error! Bookmark not defined. .... اثر پروژسترون و آنتاگونیست گیرنده آن بر محتوای آبی ایوانز مغز: نفوذ پذیری سد خونی مغزی . Error! Bookmark not defined.

Error! Bookmark not defined. .... اثر پروژسترون و آنتاگونیست گیرنده آن بر نمره نورولوژیک (VCS) ... Error! Bookmark not defined.

Error! Bookmark not defined. .... اثر پروژسترون و آنتاگونیست گیرنده آن بر میزان فشار داخل مجسمه ای (ICP) Error! Bookmark not defined.

۴-۵- اثر پروژسترون و آنتاگونیست گیرنده آن بر میزان فشار پرفیوژن مغز (CPP) .... Error! Bookmark not defined.

۴-۶- اثر پروژسترون و آنتاگونیست گیرنده آن بر بیان PI3K و p-Akt در بافت مغز ... Error! Bookmark not defined.

۴-۷- اثر پروژسترون و آنتاگونیست گیرنده آن بر پیامدهای هیستوپاتولوژیک ..... Error! Bookmark not defined.

۴-۸- اثر پروژسترون و آنتاگونیست گیرنده آن بر عملکرد vestibulomotor .. Error! Bookmark not defined.

۴-۸-۱- مقایسه زمان طی شده در تست BW ..... Error! Bookmark not defined.

۴-۸-۲- مقایسه مسافت طی شده در تست BW ..... Error! Bookmark not defined.

۴-۹- اثر پروژسترون و آنتاگونیست گیرنده آن بر فعالیت لوکوموتور در OFT .. Error! Bookmark not defined.

۴-۹-۱- مقایسه مسافت طی شده در OFT ..... Error! Bookmark not defined.

۴-۹-۲- مقایسه سرعت حرکت در OFT ..... Error! Bookmark not defined.

۴-۱۰- اثر پروژسترون و آنتاگونیست گیرنده آن بر رفتار شبه اضطرابی ..... Error! Bookmark not defined.

۴-۱۰-۱- مقایسه درصد زمان سپری شده در بازوی بازم EPM ..... Error! Bookmark not defined.

۴-۱۰-۲- مقایسه درصد تعداد دفعات ورود به بازوی بازم EPM ..... Error! Bookmark not defined.

۴-۱۱- یادگیری فضایی در ماز آبی موریس MWM ..... Error! Bookmark not defined.

۴-۱۲- اثر پروژسترون و آنتاگونیست گیرنده آن بر حافظه فضایی در MWM .. Error! Bookmark not defined.

۴-۱۲-۱- مقایسه درصد زمان سپری شده در ربع هدف ..... Error! Bookmark not defined.

۴-۱۲-۲- مقایسه درصد مسافت طی شده در ربع هدف ..... Error! Bookmark not defined.

۴-۱۲-۳- مقایسه تعداد دفعات ورود به ربع هدف ..... Error! Bookmark not defined.

۴-۱۳- اثر E2، E2-BSA، G1 و آنتاگونیست‌های گیرنده‌های استروژن بر محتوای آب مغز: خیز مغزی Error!

Bookmark not defined.

۴-۱۴- اثر E2، E2-BSA، G1 و آنتاگونیست‌های گیرنده‌های استروژن بر محتوای آبی ایوانز مغز: نفوذ پذیری

سد خونی مغز ..... Error! Bookmark not defined.

۴-۱۵- اثر E2، E2-BSA، G1 و آنتاگونیست‌های گیرنده‌های استروژن بر فشار داخل جمجمه‌ای (ICP) .....

Error! Bookmark not defined.

۴-۱۶- اثر E2، E2-BSA، G1 و آنتاگونیست‌های گیرنده‌های استروژن بر فشار پرفیوژن مغزی (CPP) . Error!

Bookmark not defined.

۴-۱۷- اثر E2، E2-BSA، G1 و آنتاگونیست‌های گیرنده‌های استروژن بر نمره نورولوژیک (VCS) ..... Error!

Bookmark not defined.

۴-۱۸- اثر E2، E2-BSA، G1 و آنتاگونیست‌های گیرنده‌های استروژن بر بیان PI3K و P-Akt در بافت مغز .

Error! Bookmark not defined.

۴-۱۸-۱- اثر E2، E2-BSA، G1 و آنتاگونیست‌های گیرنده‌های استروژن بر بیان PI3K در بافت مغز . Error!

Bookmark not defined.

۴-۱۸-۲- اثر E2، E2-BSA، G1 و آنتاگونیست‌های گیرنده‌های استروژن بر بیان p-Akt در بافت مغز . Error!

Bookmark not defined.

۴-۱۹- اثر E2، E2-BSA، G1 و آنتاگونیست‌های گیرنده‌های استروژن بر پیامدهای هیستوپاتولوژیک Error!

Bookmark not defined.

۴-۱۹-۱- اثر E2 و آنتاگونیست‌های گیرنده‌های استروژن بر پیامدهای هیستوپاتولوژیک ... Error! Bookmark

not defined.

۴-۱۹-۲ اثر E2-BSA و آنتاگونیست‌های گیرنده‌های استروژن بر پیامدهای هیستوپاتولوژیک ..... Error!

Bookmark not defined.

۴-۱۹-۳ اثر G1 و آنتاگونیست گیرنده GPR30 بر پیامدهای هیستوپاتولوژیک ..... Error! Bookmark not

defined.

۴-۲۰ اثر E2-BSA، E2، G1 و آنتاگونیست‌های گیرنده‌های استروژن بر فعالیت لوکوموتور در OFT Error!

Bookmark not defined.

۴-۲۰-۱ مقایسه مسافت طی شده در OFT ..... Error! Bookmark not defined.

۴-۲۰-۲ مقایسه سرعت حرکت در OFT ..... Error! Bookmark not defined.

۴-۲۱ اثر E2، E2-BSA، G1 و آنتاگونیست‌های گیرنده‌های استروژن بر رفتار شبه اضطرابی ..... Error!

Bookmark not defined.

۴-۲۱-۱ مقایسه ی درصد زمان سپری شده در بازوی بازمی EPM ..... Error! Bookmark not defined.

۴-۲۱-۲ مقایسه درصد تعداد دفعات ورود به بازوی بازمی EPM ..... Error! Bookmark not defined.

۴-۲۲ یادگیری فضایی در ماز آبی موریس (MWM) ..... Error! Bookmark not defined.

۴-۲۳ اثر E2، E2-BSA، G1 و آنتاگونیست‌های گیرنده‌های استروژن بر حافظه فضایی در MWM .. Error!

Bookmark not defined.

۴-۲۳-۱ مقایسه درصد زمان سپری شده در ربع هدف ..... Error! Bookmark not defined.

۴-۲۳-۲ مقایسه مسافت طی شده در ربع هدف ..... Error! Bookmark not defined.

## فصل پنجم: بحث و نتیجه‌گیری

۵-۱ بحث و نتیجه‌گیری ..... Error! Bookmark not defined.

۵-۲ نتیجه‌گیری کلی ..... Error! Bookmark not defined.

۳-۵- پیشنهادات ..... Error! Bookmark not defined.

منابع ..... ۳

پیوست‌ها ..... ۴۷

## فهرست جداول

صفحه	عنوان
Error! Bookmark not defined. ....	جدول ۳-۱- مواد مورد استفاده در مطالعه
Error! Bookmark not defined. ....	جدول ۳-۲- دستگاه‌های مورد استفاده در مطالعه
Error! Bookmark not defined. ....	جدول ۳-۳- Veterinary comma scale (VCS)
Error! Bookmark not defined. ....	جدول ۳-۴- مواد تشکیل دهنده ژل پایین، ژل جداکننده (Resolving gel)
Error! Bookmark not defined. ....	جدول ۳-۵- مواد تشکیل دهنده ژل بالا، ژل متراکم کننده (Stacking gel)
Error! Bookmark not defined. ....	جدول ۳-۶- نحوه آماده‌سازی استانداردهای BSA
	جدول ۴-۱- مقایسه نمره نورولوژیک (VCS) در گروه‌های مطالعه قبل (۱-) و در زمان‌های متفاوت (۱، ۴ و ۲۴ ساعت) بعد از ضربه مغزی
Error! Bookmark not defined. ....	



## فهرست شکل‌ها

عنوان	صفحه
شکل ۲-۱- انواع آسیب اولیه.....	Error! Bookmark not defined.
شکل ۲-۲- صدمات سر براساس وقوع یا رویداد طبقه بندی می شوند: (a) آسیب اولیه، آسیب مکانیکی (b)	
آسیب ثانویه، آسیب غیر مکانیکی تاخیری .....	Error! Bookmark not defined.
شکل ۲-۳- مکانیسم های پاتوفیزیولوژیک آسیب ثانویه بعد از TBI .....	Error! Bookmark not defined.
شکل ۲-۴- نمایش شماتیک ساخت، متابولیسم و گیرنده های اصلی که در عملکرد پروژسترون و متابولیت های آن در مغز نقش دارند. ....	Error! Bookmark not defined.
شکل ۲-۵- مکانیسم های حفاظت نورونی متابولیسم و فیزیولوژیکی پروژسترون بعد از TBI .....	Error! Bookmark not defined.
	Bookmark not defined.
شکل ۲-۶- ساخت استروژن در تخمدان و مغز.....	Error! Bookmark not defined.
شکل ۲-۷- مسیر پیام رسانی با واسطه E2 و ER .....	Error! Bookmark not defined.
شکل ۲-۸- جدول زمانی وقایع پس از TBI و اثرات محافظت نورونی ۱۷-استرادیول (E2) .....	Error! Bookmark not defined.
	Bookmark not defined.
شکل ۳-۱- نمودار شماتیک از طراحی مطالعه و پروتکل آزمایشات .....	Error! Bookmark not defined.
شکل ۳-۲- فلوچارت گروه بندی حیوانات.....	Error! Bookmark not defined.
شکل ۳-۳- برداشتن دو طرفه تخمدان ها (Ovariectomy).....	Error! Bookmark not defined.
شکل ۳-۴- مرحله کانول گذاری در نای حیوان.....	Error! Bookmark not defined.
شکل ۳-۶- دستگاه القای ضربه مغزی.....	Error! Bookmark not defined.
شکل ۳-۷- تزریق رنگ آبی ایوانز داخل ورید ژوگولا.....	Error! Bookmark not defined.

شکل ۳-۸. پرفیوژن بطنی برای شستشوی رنگ داخل عروقی. .... Error! Bookmark not defined.

شکل ۳-۹. ردیابی حیوان در آزمون جعبه باز توسط نرم افزار. .... Error! Bookmark not defined.

شکل ۳-۱۰. ردیابی حیوان در آزمون ماز به علاوه مرتفع توسط نرم افزار. .... Error! Bookmark not defined.

شکل ۳-۱۱. ردیابی حیوان در آزمون ماز آبی موریس توسط نرم افزار. .... Error! Bookmark not defined.

## فهرست نمودارها

عنوان	صفحه
نمودار ۴-۱- مقایسه محتوای آب مغز (درصد) در گروه‌های مختلف ۲۴ ساعت بعد از ضربه مغزی.....	۲
نمودار ۴-۲- مقایسه رنگ آبی ایوانز مغز در گروه‌های مختلف ۵ ساعت بعد از ضربه مغزی .....	Error!
Bookmark not defined.	
نمودار ۴-۳- مقایسه نمره ی پیامد نورولوژیک (VCS : veterinary comma sale) در گروه‌های مختلف قبل و در زمان‌های متفاوت بعد از آسیب مغزی .....	Error! Bookmark not defined.
نمودار ۴-۴- مقایسه میزان فشار داخل جمجمه ای (ICP) در گروه‌های مختلف مطالعه قبل و در زمان‌های متفاوت بعد از ضربه مغزی .....	Error! Bookmark not defined.
نمودار ۴-۵- مقایسه میزان فشار پرفیوژن مغزی (CPP) در گروه‌های مختلف قبل و در زمان‌های متفاوت بعد از ضربه مغزی .....	Error! Bookmark not defined.
نمودار ۴-۶- مقایسه بیان PI3K و P-Akt در بافت مغز در گروه‌ای مختلف ..	Error! Bookmark not defined.
نمودار ۴-۷- تصاویر پاتولوژی از برش‌های مغزی رنگ آمیزی شده با هماتوکسیلین و ائوزین، ۲۴ ساعت پس از ضربه مغزی .....	Error! Bookmark not defined.
نمودار ۴-۸- مقایسه زمان عبور (A,B) و مسافت طی شده (C,D) بر روی میله باریک مرتفع در گروه‌های مختلف قبل از ضربه، در روز آسیب (D0)، روز اول (D1) و روز دوم (D2) پس از ضربه مغزی .....	Error!
Bookmark not defined.	
نمودار ۴-۹- مقایسه مسافت طی در گروه‌های مطالعه در روزهای ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ پس از ضربه مغزی در آزمون OFT .....	Error! Bookmark not defined.
نمودار ۴-۱۰- مقایسه سرعت حرکت در گروه‌های مطالعه در روزهای ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ پس از ضربه مغزی در آزمون OFT .....	Error! Bookmark not defined.

**نمودار ۴-۱۱-** مقایسه درصد زمان سپری شده در بازوی باز در آزمون EPM (ماز به علاوه مرتفع) در گروه‌های

مختلف ..... Error! Bookmark not defined.

**نمودار ۴-۱۲-** مقایسه درصد تعداد دفعات ورود به بازوی باز در آزمون EPM (ماز به علاوه مرتفع) بین گروه‌های

مختلف در روزهای متفاوت بعد از آسیب ضربه مغزی ..... Error! Bookmark not defined.

**نمودار ۴-۱۳-** مقایسه زمان سپری شده برای یافتن سکو پنهان در فاز یادگیری ماز آبی موریس در گروه‌های

مختلف ..... Error! Bookmark not defined.

**نمودار ۴-۱۳-** مقایسه مسافت پیموده شده برای یافتن سکوی پنهان در فاز یادگیری ماز آبی موریس در

گروه‌های مختلف ..... Error! Bookmark not defined.

**نمودار ۴-۱۴-** مقایسه درصد زمان سپری شده در ربع هدف در آزمون پروب ماز آبی موریس در گروه‌های

مختلف ..... Error! Bookmark not defined.

**نمودار ۴-۱۵-** مقایسه مسافت طی شده در ربع هدف در آزمون پروب ماز آبی موریس در گروه‌های

مختلف ..... Error! Bookmark not defined.

**نمودار ۴-۱۶-** مقایسه تعداد دفعات ورود به ربع هدف در آزمون پروب ماز آبی موریس در گروه‌های

مختلف ..... Error! Bookmark not defined.

**نمودار ۴-۱۷-** مقایسه محتوای آب مغز (درصد) در گروه‌های مختلف ۲۴ ساعت بعد از ضربه مغزی .. Error!

Bookmark not defined.

**نمودار ۴-۱۸-** اثر آنتاگونیست‌های گیرنده‌های استروژن در حضور آگونیست‌های مختلف در گروه‌های متفاوت

بر محتوای آب مغز ۲۴ ساعت بعد از ضربه مغزی ..... Error! Bookmark not defined.

**نمودار ۴-۱۹-** مقایسه محتوای رنگ آبی ایوانز مغز ( $\mu\text{g/g tissue}$ ) در گروه‌های مختلف ۵ ساعت بعد از ضربه

مغزی ..... Error! Bookmark not defined.

**نمودار ۴-۲۰.** اثر آنتاگونیست‌های گیرنده‌های استروژن در حضور آگونیست‌های مختلف در گروه‌های متفاوت

بر محتوای رنگ آبی ایوانز مغز ( $\mu\text{g/g tissue}$ ) در گروه‌های مختلف ۵ ساعت بعد از ضربه مغزی ..... Error!

Bookmark not defined.

**نمودار ۴-۲۱.** مقایسه میزان فشار داخل جمجمه ای (ICP) در گروه‌های مطالعه قبل و در زمان‌های متفاوت

بعد از ضربه مغزی ..... Error! Bookmark not defined.

**نمودار ۴-۲۲.** اثر آنتاگونیست‌های گیرنده‌های استروژن در حضور آگونیست‌های مختلف در گروه‌های متفاوت

بر میزان فشار داخل جمجمه ای (ICP) قبل و در زمان‌های متفاوت بعد از ضربه مغزی ... Error! Bookmark

not defined.

**نمودار ۴-۲۳.** مقایسه میزان فشار پرفیوژن مغزی (CPP) در گروه‌های مطالعه قبل و در زمان‌های متفاوت بعد

از ضربه مغزی ..... Error! Bookmark not defined.

**نمودار ۴-۲۴.** اثر آنتاگونیست‌های گیرنده‌های استروژن در حضور آگونیست‌های مختلف در گروه‌های متفاوت

بر میزان فشار پرفیوژن مغزی (CPP) قبل و در زمان‌های متفاوت بعد از ضربه مغزی . Error! Bookmark not

defined.

**نمودار ۴-۲۵.** مقایسه بیان PI3K و P-Akt در بافت مغز در گروه‌های مختلف ..... Error! Bookmark not

defined.

**نمودار ۴-۲۶.** مقایسه بیان P-Akt در بافت مغز در گروه‌های مختلف ..... Error! Bookmark not defined.

**نمودار ۴-۲۷.** تصاویر پاتولوژی از برش‌های مغزی رنگ آمیزی شده با همتوکسیلین و ائوزین ۲۴ ساعت پس از

ضربه مغزی ..... Error! Bookmark not defined.

**نمودار ۴-۲۸.** تصاویر پاتولوژی از برش‌های مغزی رنگ آمیزی شده با همتوکسیلین و ائوزین ۲۴ ساعت پس از

ضربه مغزی.....

Error! Bookmark not defined.

نمودار ۴-۲۹- تصاویر پاتولوژی از برش های مغزی رنگ آمیزی شده با هماتوکسیلین و ائوزین ۲۴ ساعت پس از ضربه مغزی.....

Error! Bookmark not defined.

نمودار ۴-۳۰- مقایسه مسافت کل طی شده در گروه های مطالعه در روزهای ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ پس از ضربه

مغزی در OFT ..... Error! Bookmark not defined.

نمودار ۴-۳۱- مقایسه سرعت حرکت در گروه های مختلف مطالعه در OFT. Error! Bookmark not defined.

نمودار ۴-۳۲- مقایسه زمان سپری شده در بازوی باز (%) در گروه های مطالعه در روزهای ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ بعد

از ضربه مغزی در EPM ..... Error! Bookmark not defined.

نمودار ۴-۳۳- مقایسه تعداد دفعات ورود به بازوی باز (%) در گروه های مختلف در EPM Error! Bookmark not defined.

نمودار ۴-۳۴- مقایسه زمان سپری شده برای یافتن سکو پنهان در فاز یادگیری ماز آبی موریس در گروه های

مختلف ..... Error! Bookmark not defined.

نمودار ۴-۳۵- مقایسه زمان سپری شده برای یافتن سکو پنهان در فاز یادگیری ماز آبی موریس در گروه های مختلف

Error! .....

Bookmark not defined.

نمودار ۴-۳۶- مقایسه زمان سپری شده در ربع هدف (%) در گروه های مطالعه در روزهای ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ بعد

از ضربه مغزی ..... Error! Bookmark not defined.

نمودار ۴-۳۷- مقایسه مسافت طی شده در ربع هدف (%) در گروه های مطالعه در روزهای ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ بعد

از ضربه مغزی ..... Error! Bookmark not defined.

## فهرست پیوست ها

صفحه

عنوان

پیوست شماره یک: برگه‌ی اطلاعات ایمنی (MSDS) ..... ۱۸۵

## فهرست کوتاه نوشته ها

Abbreviations	
TBI	Traumatic brain injury
Veh	Vehicle
P4	Progesterone
E2	17 $\beta$ -estradiol
E2-BSA	17 $\beta$ -estradiol-conjugated to bovine serum albumin
G1	G-protein coupled estrogen receptor agonist
G15	G-protein coupled estrogen receptor antagonist
ICI	ICI 780,182, Faslodex
BWC	Brain water content
EBC	Evans blue content
VCS	Veterinary comma scale
ICP	Intracranial pressure
CPP	Cerebral perfusion pressure
PI3K	Phosphatidyl inositol 3- phosphate
GPER	G-protein estrogen receptor
MWM	Morris water mase
EPM	elevated plus mase
OFT	open field test
BBB	Blood brain barrier



mPR	Membrane progesterone receptor
PR	progesterone receptor
PGRMC1	progesterone receptor membrane component 1
BB	Beam balance
BW	Beam walk
OVX	ovariectomized
ER $\alpha, \beta$	Estrogen receptor $\alpha, \beta$
RU	RU486 (mifepristone)
DMSO	Dimethyl sulfoxide
PBS	Phosphate-buffered saline

## چکیده

**مقدمه و اهداف:** از آنجایی که در مطالعات قبلی گزارش شده است که هورمون‌های جنسی زنانه استروژن (E2) و پروژسترون (P4) دارای نقش حفاظت نوروئی بعد از آسیب تروماتیک مغزی (TBI) هستند، بنابراین، در مطالعه حاضر به منظور تعیین نقش گیرنده های کلاسیک و غیر کلاسیک E2 در واسطه گری اثر حفاظت عصبی، از E2-BSA (استروژن کونژوگه به آلبومین سرم گاوی)، G1 (آگونیست انتخابی گیرنده GPR30، ICI (آنتاگونیست گیرنده های کلاسیک) و G15 (آنتاگونیست انتخابی GPR30) استفاده کردیم و هم چنین نقش گیرنده های کلاسیک P4 در واسطه گری اثرات حفاظت عصبی پروژسترون بررسی شد. علاوه بر این، اثرات E2 و P4 بر فعالیت شناختی، حرکتی و رفتار شبه اضطرابی در طولانی مدت و نقش مسیر غیر ژنومیک PI3K/Akt در واسطه گری اثرات این دو هورمون ارزیابی شد.

**روش تحقیق:** موش های صحرای ماده فاقد تخمدان به گروه های زیر تقسیم شدند: گروه های E2، P4، E2-BSA، G1، که به آن ها این مواد بعد از TBI تزریق شد، در حالی که در گروه های ICI، G15، ICI + G15 قبل از القای TBI این مواد تزریق و بعد تزریق E2 و E2-BSA انجام شد. در گروه آنتاگونیست گیرنده کلاسیک پروژسترون (RU486) نیز قبل از القای TBI و مصرف P4 تزریق شد. محتوای آب مغز (BWC) و رنگ آبی ایوانز (EB) به ترتیب ۵ و ۲۴ ساعت بعد از TBI اندازه گیری شد. فشار داخل جمجمه (ICP) و فشار پرفیوژن مغزی (CPP) و پیامد نورولوژیک (VCS) قبل و در زمان های مختلف پس از TBI اندازه گیری شد. مطالعه هیستوپاتولوژیکی و بیان PI3K/p-Akt در ۲۴ ساعت بعد از القاء ضربه مغزی به ترتیب از طریق رنگ آمیزی H&E و وسترن بلات بررسی شدند. فعالیت حرکتی، رفتار شبه اضطرابی و حافظه فضایی در روزهای ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ پس از آسیب ارزیابی شدند.

**یافته‌ها:** RU486 اثرات مهاری P4 بر BWC و EB را پس از TBI از بین برد. RU486 اثر کاهشی P4 بر ICP و هم چنین اثر افزایشی P4 بر CPP و VCS پس از TBI را مهار کرد. P4 مانع از کاهش بیان PI3K/p-Akt بعد از ضربه مغزی شد. اختلالات حرکتی، شناختی و اضطرابی، که به مدت ۳ هفته پس از TBI ادامه داشتند، اما P4 از این ناهنجاریهای شناختی و رفتاری جلوگیری کرد و RU486 با بعضی از این اثرات P4 مخالفت کرد.

E2، E2-BSA و G1 از افزایش محتوای BWC و EB پس از TBI جلوگیری کردند و این اثرات توسط ICI و G15 مهار شد. ICI و G15 هم چنین اثرات مفید E2، E2-BSA بر ICP، CPP و VCS را پس از ضربه مغزی مهار کرد. E2، E2-BSA و G1 مانع از کاهش در بیان پروتئین PI3K/p-Akt مغزی شدند. تجویز همزمان ICI و G15 اثرات مفید E2، E2-BSA را بر روی بیان PI3K/p-Akt مهار کرد. E2، E2-BSA و G1 از نقایص شناختی و ناهنجاری های رفتاری ناشی از TBI جلوگیری می کنند، اگرچه، ICI و G15 نیز این اثرات E2 و E2-BSA را بر روی این پارامترها در روزهای ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ معکوس می کنند.

**بحث و نتیجه گیری:** گیرنده های کلاسیک پروژسترون دارای اثرات حفاظت عصبی هستند و از نقص شناختی و رفتاری طولانی مدت پس از TBI جلوگیری می کنند. هم چنین از آنجایی که یافته های ما نشان دادند، اثرات حفاظت عصبی E2-BSA و E2 توسط ICI و G15 مهار می شود، نتیجه گیری می شود که هر دو گیرنده GPER30 و گیرنده های کلاسیک استروژن در واسطه گری اثرات E2 نقش دارند. علاوه بر این مسیر غیر ژنومیک PI3K/Akt نقش مهمی برای واسطه گری اثرات مفید این دواستروئید جنسی بر عملکرد حفاظت عصبی پس از TBI دارد.

**واژگان کلیدی:** استروژن، پروژسترون، TBI، پیامد های رفتاری، حافظه فضایی، گیرنده های کلاسیک

استروژن، گیرنده غیر کلاسیک استروژن، مسیر غیر ژنومیک، سیگنالینگ PI3K/Akt

**بعد از ضربه مغزی (n6).** داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای معیار بیان شدند. \*\*\*: در مقایسه با sham ( $P < 0.001$ ), # #:

در مقایسه با oil ( $P < 0.01$ ). †: در مقایسه با VEH+P4 ( $P < 0.05$ ). sham. شام، TBI: ضربه مغزی، P4:

پروژسترون، VEH+P4: حلال+پروژسترون، RU+P4: RU486+پروژسترون.

# منابع

1. Parchani A, El-Menyar A, Al-Thani H, El-Faramawy A, Zarour A, Asim M, et al. Traumatic Subarachnoid Hemorrhage Due To Motor Vehicle Crash Versus Fall From Height : A 4-Year Epidemiologic Study. *World Neurosurg* . 2014;82(5): 639-644.
2. Rutland-Brown W, Langlois JA, Thomas KE, Xi YL. Incidence of traumatic brain injury in the United States, 2003. *J Head Trauma Rehabil*. 2006;21(6):544-8.
3. Khosravi A, Taylor R, Naghavi M, Lopez AD. Mortality in the Islamic Republic of Iran, 1964-2004. Vol. 85, *Bulletin of the World Health Organization*. World Health Organization; 2007. p. 607-14.
4. O'Connor WT, Smyth A, Gilchrist MD. Animal models of traumatic brain injury: A critical evaluation. *Pharmacol Ther* . 2011;130(2):106-13.
5. Khaksari M, Mahmmodi R, Shahrokhi N, Shabani M, Joukar S, Aqapour M. The Effects of Shilajit on Brain Edema, Intracranial Pressure and Neurologic Outcomes following the Traumatic Brain Injury in Rat. *Iran J Basic Med Sci*. 2013;16(7):858-64.
6. Unterberg AW, Stover J, Kress B, Kiening KL. Edema and brain trauma. *Neuroscience [Internet]*. 2004;129(4):1019-27.
7. Gu X, Wei ZZ, Espinera A, Lee JH, Ji X, Wei L, et al. Pharmacologically induced hypothermia attenuates traumatic brain injury in neonatal rats. *Exp Neurol*. 2015;267:135-42.
8. Kleindienst A, Bullock MR. A critical analysis of the role of the neurotrophic protein S100B in acute brain injury. *Journal of Neurotrauma*. *J Neurotrauma*; 2006. p. 1185-200.
9. Yeung JHH, Mikocka-Walus A a, Cameron P a, Poon WS, Ho HF, Chang A, et al. Protection from traumatic brain injury in hormonally active women vs men of a similar age : a retrospective international study. *Arch Surg*. 2011;146(4):436-42.

10. Shahrokhi N, Haddad MK, Joukar S, Shabani M, Keshavarzi Z, Shahozehi B. Neuroprotective antioxidant effect of sex steroid hormones in traumatic brain injury. *Pak J Pharm Sci.* 2012;25(1):219-25.
11. Dehghan F, Khaksari M, Abbasloo E, Shahrokhi N. The Effects of Estrogen Receptors' Antagonist on Brain Edema, Intracranial Pressure and Neurological Outcomes after Traumatic Brain Injury in Rat. *Iran Biomed J.* 2015;19(3):165-71.
12. Sarkaki AR, Khaksari Haddad M, Soltani Z, Shahrokhi N, Mahmoodi M. Time- and Dose-Dependent Neuroprotective Effects of Sex Steroid Hormones on Inflammatory Cytokines after a Traumatic Brain Injury. *J Neurotrauma.* 2011;30(1):47-54.
13. Stein DG. A clinical/translational perspective: Can a developmental hormone play a role in the treatment of traumatic brain injury? *Horm Behav.* 2013;63(2):291-300.
14. He J, Evans CO, Hoffman SW, Oyesiku NM, Stein DG. Progesterone and allopregnanolone reduce inflammatory cytokines after traumatic brain injury. *Exp Neurol.* 2004;189(2):404-12.
15. Djebaili M, Guo Q, Pettus EH, Hoffman SW, Stein DG. The Neurosteroids Progesterone and Allopregnanolone Reduce Cell Death, Gliosis, and Functional Deficits after Traumatic Brain Injury in Rats. *J Neurotrauma.* 2005 Jan;22(1):106-18.
16. Pajović S, Sačić ZS, Spasić MB, Petrović VM MJ V. Effects of progesterone and estradiol benzoate on superoxide dismutase activity in the brain of male rats. 1996;50-3.
17. Brinton RD, Thompson RF, Foy MR, Baudry M, Wang JM, Finch CE, et al. Progesterone receptors: Form and function in brain. Vol. 29, *Frontiers in Neuroendocrinology*. NIH Public Access; 2008. p. 313-39. t

18. Liu A, Margail I, Zhang S, Labombarda F, Coqueran B, Delespierre B, et al. Progesterone Receptors: A Key for Neuroprotection in Experimental Stroke. *Endocrinology*. 2012;153(8):3747-57.
19. Liu R, Wen Y, Perez E, Wang X, Day AL, Simpkins JW, et al. 17beta-Estradiol attenuates blood-brain barrier disruption induced by cerebral ischemia-reperfusion injury in female rats. *Brain Res* . 2005;1060(1-2):55-61.
20. Soltani Z, Khaksari M, Shahrokhi N, Mohammadi G, Mofid B, Vaziri A, et al. Effect of estrogen and/or progesterone administration on traumatic brain injury-caused brain edema: the changes of aquaporin-4 and interleukin-6. *J Physiol Biochem*. 2016 5;72(1):33-44.
21. Liu M, Kelley MH, Herson PS, Hurn PD. Neuroprotection of sex steroids. *Minerva Endocrinol*. 2010;35(2):127-43.
22. Naderi V, Khaksari M, Abbasi R, Maghool F. Estrogen provides neuroprotection against brain edema and blood brain barrier disruption through both estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$  following traumatic brain injury. *Iran J Basic Med Sci*. 2015 Feb;18(2):138-44.
23. Drummond GR, Sobey Chantelle V, Gardiner-Mann CG, Guida E, Evans MA, Miller AA, Brad RS, Broughton T V, et al. Sex-Dependent Effects of G Protein-Coupled Estrogen Receptor Activity on Outcome After Ischemic Stroke. *Stroke*. 2014;45:835-41.
24. Asl SZ, Khaksari M, Khachki AS, Shahrokhi N, Nourizade S. Contribution of estrogen receptors alpha and beta in the brain response to traumatic brain injury. *J Neurosurg*. 2013;119(2):353-61.
25. Bourque M, Morissette M, Di Paolo T. Neuroprotection in Parkinsonian-treated mice via estrogen receptor  $\alpha$  activation requires G protein-coupled estrogen receptor 1.



Neuropharmacology. 2015;95 :343-52.

26. Raz L, Khan MM, Mahesh VB, Vadlamudi RK, Brann DW. Rapid Estrogen Signaling in the Brain. *Neurosignals* . 2008;16(2-3):140-53.

27. Yu H-P, Hsieh Y-C, Suzuki T, Choudhry M a, Schwacha MG, Bland KI, et al. The PI3K/Akt pathway mediates the nongenomic cardioprotective effects of estrogen following trauma-hemorrhage. *Ann Surg*. 2007;245(6):971-7.

28. Hsu J-T, Kan W-H, Hsieh C-H, Choudhry M a, Schwacha MG, Bland KI, et al. Mechanism of estrogen-mediated attenuation of hepatic injury following trauma-hemorrhage: Akt-dependent HO-1 up-regulation. *J Leukoc Biol* . 2007;82(4):1019-26.

29. Singh M, Su C, Ng S. Non-genomic mechanisms of progesterone action in the brain. *Front Neurosci*. 2013,19;7:159.

30. Meffre D, Labombarda F, Delespierre B, Chastre A, De Nicola AF, Stein DG, et al. Distribution of membrane progesterone receptor alpha in the male mouse and rat brain and its regulation after traumatic brain injury. *Neuroscience*. 2013 ;231 :111-24.

31. Liu B, Arbogast LA. Gene expression profiles of intracellular and membrane progesterone receptor isoforms in the mediobasal hypothalamus during pro-oestrus. *J Neuroendocrinol*. 2009 ;21(12):993-1000.

32. Petersen SL, Intlekofer KA, Moura-Conlon PJ, Brewer DN, del Pino Sans J, Lopez JA. Nonclassical Progesterone Signalling Molecules in the Nervous System. *J Neuroendocrinol*. 2013;25(11):991-1001.

33. Okie S. Traumatic Brain Injury in the War Zone. *N Engl J Med* . 2005 ;352(20):2043-7.

34. Young LA, Rule GT, Bocchieri RT, Burns JM. Biophysical mechanisms of traumatic

brain injuries. *Semin Neurol.* 2015;35(1):5-11.

35. Faul M, Xu L, Wald M C V. Traumatic Brain Injury in the United States: Emergency Department Visits, Hospitalizations and Deaths. National Center for Injury Prevention and Control; 2010.

36. Greve MW, Zink BJ. Pathophysiology of traumatic brain injury. *Mt Sinai J Med A J Transl Pers Med.* 2009;76(2):97-104.

37. Barker-Collo SL, Feigin VL. Capturing the spectrum: Suggested standards for conducting population-based traumatic brain injury incidence studies. *Neuroepidemiology*; 2008 ; p. 1-3.

38. Tagliaferri F, Compagnone C, Korsic M, Servadei F, Kraus J. A systematic review of brain injury epidemiology in Europe [Internet]. Vol. 148, *Acta Neurochirurgica.* 2006 ; p. 255-67.

39. Maas AIR, Stocchetti N, Bullock R. Moderate and severe traumatic brain injury in adults. *Lancet Neurol.* 2008;7(8):728-41.

40. Marik PE, Varon J, Trask T. Management of head trauma. *Chest.* 2002;122(2):699-711.

41. McAllister TW. Neurobehavioral sequelae of traumatic brain injury: Evaluation and management. Vol. 7, *World Psychiatry.* Masson SpA; 2008. p. 3-10.

42. Bains M, Hall ED. Antioxidant therapies in traumatic brain and spinal cord injury. Vol. 1822, *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease.* *Biochim Biophys Acta*; 2012 p. 675-84.

43. Cervellin G, Benatti M, Carbucicchio A, Mattei L, Cerasti D, Aloe R, et al. Serum levels of protein S100B predict intracranial lesions in mild head injury. *Clin Biochem.* 2012

A;45(6):408-11.

44. Marklund N, Bakshi A, Castelbuono D, Conte V, McIntosh T. Evaluation of Pharmacological Treatment Strategies in Traumatic Brain Injury. *Curr Pharm Des.* 2006;12(13):1645-80.

45. Maas AIR, Marmarou A, Murray GD, Teasdale GM, Steyerberg EW. Prognosis and clinical trial design in traumatic brain injury: The IMPACT study [Internet]. *J Neurotrauma*; 2007. p. 232-8.

46. Warner DS, James ML, Laskowitz DT, Wijdicks EF. Translational research in acute central nervous system injury: Lessons learned and the future. Vol. 71, *JAMA Neurology.* American Medical Association; 2014 . p. 1311-8.

47. L. AM, MOHAMMAD K, GH.R. S, SH. D, GH.R. AK, MAHDI M, et al. COMPARISON OF THE EFFECTS OF PROGESTERONE, ALLOPREGNANOLONE AND GENDER ON SUPRESSING EDEMA FORMATION AFTER TRAUMATIC BRAIN INJURY IN RATS. *JOURNAL OF KERMAN UNIVERSITY OF MEDICAL SCIENCES*; 2008. p. 47-59.

48. Shahrokhi N, Khaksari M, Soltani Z, Mahmoodi M, Nakhaee N. Effect of sex steroid hormones on brain edema, intracranial pressure, and neurologic outcomes after traumatic brain injury. *Can J Physiol Pharmacol.* 2010 Apr;88(4):414-21.

49. O'Connor CA, Cernak I, Vink R. Both estrogen and progesterone attenuate edema formation following diffuse traumatic brain injury in rats. *Brain Res.* 2005 Nov 16;1062(1-2):171-4.

50. Wright DW, Yeatts SD, Silbergleit R, Palesch YY, Hertzberg VS, Frankel M, et al. Very

Early Administration of Progesterone for Acute Traumatic Brain Injury. *N Engl J Med*. 2014;371(26):2457-66.

51. Saatman KE, Creed J, Raghupathi R. Calpain as a Therapeutic Target in Traumatic Brain Injury. *Neurotherapeutics*. 2010 Jan;7(1):31-42.

52. Smith-Seemiller L, Lovell MR, Smith S, Markosian N, Townsend RN. Impact of skull fracture on neuropsychological functioning following closed head injury. *Brain Inj*. 1997;11(3):191-6.

53. Saatman KE, Duhaime AC, Bullock R, Maas AIR, Valadka A, Manley GT, et al. Classification of traumatic brain injury for targeted therapies. In: *Journal of Neurotrauma*. J Neurotrauma; 2008. p. 719-38.

54. Ma VY, Chan L, Carruthers KJ. Incidence, prevalence, costs, and impact on disability of common conditions requiring rehabilitation in the united states: Stroke, spinal cord injury, traumatic brain injury, multiple sclerosis, osteoarthritis, rheumatoid arthritis, limb loss, and back pain. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*. W.B. Saunders; 2014.

55. Zauner A, Bullock R, Kuta AJ, Woodward J, Young HF. Glutamate Release and Cerebral Blood Flow after Severe Human Head Injury. *Acta Neurochir Suppl*. 1996;1996(67):40-4.

56. McIntosh TK, Smith DH, Voddi M, Perri BR, Stutzmann JM. Riluzole, a novel neuroprotective agent, attenuates both neurologic motor and cognitive dysfunction following experimental brain injury in the rat. *J Neurotrauma*. 1996;13(12):767-80.

57. Schouten JW. Neuroprotection in traumatic brain injury: A complex struggle against the biology of nature. *Curr Opin Crit Care*; 2007. p. 134-42.

58. Sharma D, Vavilala MS. Perioperative Management of Adult Traumatic Brain Injury..

Anesthesiol Clin; 2012. p. 333-46.

59. Weaver KD, Branch CA, Hernandez L, Miller CH, Quattrocchi KB. Effect of leukocyte-endothelial adhesion antagonism on neutrophil migration and neurologic outcome after cortical trauma. *J Trauma - Inj Infect Crit Care*. 2000;48(6):1081-90.

60. Isaksson J, Hillered L, Olsson Y. Cognitive and histopathological outcome after weight-drop brain injury in the rat: Influence of systemic administration of monoclonal antibodies to ICAM-1. *Acta Neuropathol*. 2001;102(3):246-56.

61. Plesnila N. The immune system in traumatic brain injury. Vol. 26, *Current Opinion in Pharmacology*. Elsevier Ltd; 2016. p. 110-7.

62. Johnson VE, Meaney DF, Cullen DK, Smith DH. Animal models of traumatic brain injury. In: *Handbook of Clinical Neurology*. Elsevier B.V.; 2015. p. 115-28.

63. Petraglia AL, Dashnaw ML, Turner RC, Bailes JE. Models of mild traumatic brain injury: Translation of physiological and anatomic injury. *Neurosurgery*. 2014;75:S34-49.

64. Xiong Y, Mahmood A, Chopp M. Animal models of traumatic brain injury. *Nat Rev Neurosci*; 2013. p. 128-42.

65. De Rivero Vaccari JP, Dietrich WD, Keane RW. Activation and regulation of cellular inflammasomes: Gaps in our knowledge for central nervous system injury. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. 2014. p. 369-75.

66. Lozano D, Gonzales-Portillo GS, Acosta S, de la Pena I, Tajiri N, Kaneko Y, et al. Neuroinflammatory responses to traumatic brain injury: Etiology, Clinical consequences, And therapeutic opportunities. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*. Dove Medical Press Ltd.;

2015. p. 97-106.

67. Finnie JW. Neuroinflammation : Beneficial and detrimental effects after traumatic brain injury. *Inflammopharmacology*. *Inflammopharmacology*; 2013. p. 309-20.

68. Woodcock T, Morganti-Kossmann MC. The role of markers of inflammation in traumatic brain injury. *Front Mol Neurosci*. 2012; 5 : 6.

69. Mehta A, Prabhakar M, Kumar P, Deshmukh R, Sharma PL. Excitotoxicity : Bridge to various triggers in neurodegenerative disorders. *European Journal of Pharmacology*. *Eur J Pharmacol*; 2013. p. 6-18.

70. Lynch DR, Dawson TM. Secondary mechanisms in neuronal trauma. *Current Opinion in Neurology*. Lippincott Williams and Wilkins; 1994. p. 510-6.

71. Faden AI, Demediuk P, Panter SS, Vink R. The role of excitatory amino acids and NMDA receptors in traumatic brain injury. *Science*. 1989;244(4906):798-800.

72. Jayakumar AR, Rao KVR, Panickar KS, Moriyama M, Reddy PVB, Norenberg MD. Trauma-induced cell swelling in cultured astrocytes. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2008;67(5):417-27.

73. Jain KK, Jain KK. The History of Hyperbaric Medicine. In : *Textbook of Hyperbaric Medicine*. Springer International Publishing; 2017. p. 3-9.

74. Luca L, Rogobete AF, Bedreag OH. Oxidative Stress and Antioxidant Therapy in Critically Ill Polytrauma Patients with Severe Head Injury. *J Crit Care Med*. 2015 18;1(3):83-91.

75. Zaleska MM, Floyd RA. Regional lipid peroxidation in rat brain in vitro : Possible role of endogenous iron. *Neurochem Res*. 1985;10(3):397-410.

76. Kasprzak HA, Woźniak A, Drewa G, Woźniak B. Enhanced lipid peroxidation processes

in patients after brain contusion. *J Neurotrauma*. 2001;18(8):793-7.

77. Falletti O, Cadet J, Favier A, Douki T. Trapping of 4-hydroxynonenal by glutathione efficiently prevents formation of DNA adducts in human cells. *Free Radic Biol Med*. 2007;42(8):1258-69.

78. Keller JN, Mark RJ, Bruce AJ, Blanc E, Rothstein JD, Uchida K, et al. 4-hydroxynonenal, an aldehydic product of membrane lipid peroxidation, impairs glutamate transport and mitochondrial function in synaptosomes. *Neuroscience*. 1997;80(3):685-96.

79. Durmaz R, Kanbak G, Akyüz F, Isiksoy S, Yücel F, Inal M, et al. Lazaroid attenuates edema by stabilizing ATPase in the traumatized rat brain. *Can J Neurol Sci*. 2003;30(2):143-9.

80. Račay P, Kaplán P, Mézešová V, Lehotský J. Lipid peroxidation both inhibits Ca<sup>2+</sup>ATPase and increases Ca<sup>2+</sup> permeability of endoplasmic reticulum membrane. *Biochem Mol Biol Int*. 1997;41(4):647-55.

81. Mustafa AG, Singh IN, Wang J, Carrico KM, Hall ED. Mitochondrial protection after traumatic brain injury by scavenging lipid peroxy radicals. *J Neurochem*. 2010;114(1):271-80.

82. Singh IN, Sullivan PG, Deng Y, Mbye LH, Hall ED. Time course of post-traumatic mitochondrial oxidative damage and dysfunction in a mouse model of focal traumatic brain injury: Implications for neuroprotective therapy. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2006;26(11):1407-18.

83. Lazzarino G, Di Pietro V, Lazzarino G, Amorini AM, Tavazzi B, D'urso S, et al. Neuroglobin expression and oxidant/antioxidant balance after graded traumatic brain injury in the rat. *Free Radic Biol Med*. 2014;69:258-64.

84. Uzan M, Erman H, Tanriverdi T, Sanus GZ, Kafadar A, Uzun H. Evaluation of apoptosis

in cerebrospinal fluid of patients with severe head injury. *Acta Neurochir (Wien)*. 2006;148(11):1157-64.

85. Büki A, Povlishock JT. All roads lead to disconnection? - Traumatic axonal injury revisited. *Acta Neurochir (Wien)*; 2006. p. 181-93.

86. Maier CM, Chan PH. Role of superoxide dismutases in oxidative damage and neurodegenerative disorders. *Neuroscientist*. SAGE Publications Inc.; 2002. p. 323-34.

87. Lewén A, Fujimura M, Sugawara T, Matz P, Copin JC, Chan PH. Oxidative stress-dependent release of mitochondrial cytochrome c after traumatic brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2001;21(8):914-20.

88. Keane RW, Kraydieh S, Lotocki G, Alonso OF, Aldana P, Dietrich WD. Apoptotic and antiapoptotic mechanisms after traumatic brain injury. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2001;21(10):1189-98.

89. Newcomb JK, Kampfl A, Posmantur RM, Zhao X, Pike BR, Liu SJ, et al. Immunohistochemical study of calpain-mediated breakdown products to  $\alpha$ -spectrin following controlled cortical impact injury in the rat. *J Neurotrauma*. 1997;14(6):369-83.

90. Acosta SA, Tajiri N, Shinozuka K, Ishikawa H, Grimmig B, Diamond D, et al. Long-Term Upregulation of Inflammation and Suppression of Cell Proliferation in the Brain of Adult Rats Exposed to Traumatic Brain Injury Using the Controlled Cortical Impact Model. *PLoS One*. 2013;8(8).

91. Rubiano AM, Sanchez AI, Estebanez G, Peitzman A, Sperry J, Puyana JC. The effect of admission spontaneous hypothermia on patients with severe traumatic brain injury. *Injury*.



2013;44(9):1219-25.

92. Kerschensteiner M, Gallmeier E, Behrens L, Leal VV, Misgeld T, Klinkert WEF, et al. Activated human T cells, B cells, and monocytes produce brain-derived neurotrophic factor in vitro and in inflammatory brain lesions: A neuroprotective role of inflammation? *J Exp Med.* 1999;189(5):865-70.

93. Adamczak SE, De Rivero Vaccari JP, Dale G, Brand FJ, Nonner D, Bullock M, et al. Pyroptotic neuronal cell death mediated by the AIM2 inflammasome. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2014;34(4):621-9.

94. Dalgard CL, Cole JT, Kean WS, Lucky JJ, Sukumar G, McMullen DC, et al. The cytokine temporal profile in rat cortex after controlled cortical impact. *Front Mol Neurosci.* 2012;5:6.

95. Povlishock JT, Becker DP, Sullivan HG, Miller JD. Vascular permeability alterations to horseradish peroxidase in experimental brain injury. *Brain Res.* 1978;153(2):223-39.

96. Spaethling JM, Geddes-Klein DM, Miller WJ, von Reyn CR, Singh P, Mesfin M, et al. Linking impact to cellular and molecular sequelae of CNS injury: Modeling in vivo complexity with in vitro simplicity. *Prog Brain Res;* 2007. p. 27-39.

97. Juan Sahuquillo, Anna Vilalta. Cooling the Injured Brain: How Does Moderate Hypothermia Influence the Pathophysiology of Traumatic Brain Injury. *Curr Pharm Des.* 2007;13(22):2310-22.

98. Rogatsky G, Mayevsky A, Zarchin N, Doron A. Continuous Multiparametric Monitoring of Brain Activities Following Fluid-Percussion Injury in Rats: Preliminary Results. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 1996;7(1):23-44.

99. Willmore LJ, Ueda Y. Posttraumatic epilepsy: Hemorrhage, free radicals and the

molecular regulation of glutamate. *Neurochemical Research*. 2009. p. 688-97.

100. Bramlett HM, Dietrich WD. Pathophysiology of cerebral ischemia and brain trauma: Similarities and differences. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. Lippincott Williams and Wilkins; 2004. p. 133-50.

101. Honda M, Sase S, Yokota K, Ichibayashi R, Yoshihara K, Masuda H, et al. Early cerebral circulation disturbance in patients suffering from different types of severe traumatic brain injury: a xenon CT and perfusion CT study. *Acta Neurochir Suppl*. 2013;118:259-63.

102. Bhatia A, Gupta AK. Neuromonitoring in the intensive care unit. I. Intracranial pressure and cerebral blood flow monitoring. Vol. 33, *Intensive Care Medicine*. Intensive Care Med; 2007. p. 1263-71.

103. Dixon KJ. Pathophysiology of Traumatic Brain Injury. *Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America*. 2017. p. 215-25. Available from: [www.neurosciencesjournal.org](http://www.neurosciencesjournal.org)

104. Mittal M, Siddiqui MR, Tran K, Reddy SP, Malik AB. Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxidants and Redox Signaling*; 2014. p. 1126-67.

105. Madikians A, Giza CC. A clinician's guide to the pathophysiology of traumatic brain injury. *Indian J Neurotrauma*. 2006;3(1):9-17.

106. Workman JL, Barha CK, Galea LAM. Endocrine substrates of cognitive and affective changes during pregnancy and postpartum. *Behav Neurosci*. 2012;126(1):54-72.

107. Kimura D. Sex hormones influence human cognitive pattern. *Neuro endocrinology letters*. 2002. p. 67-77.

108. Talboom JS, Williams BJ, Baxley ER, West SG, Bimonte-Nelson HA. Higher levels of

estradiol replacement correlate with better spatial memory in surgically menopausal young and middle-aged rats. *Neurobiol Learn Mem.* 2008;90(1):155-63.

109. Baulieu EE, Schumacher M, Koenig H, Jung-Testas I, Akwa Y. Progesterone as a neurosteroid: Actions within the nervous system. *Cellular and Molecular Neurobiology.* Springer New York LLC; 1996. p. 143-54.

110. De Nicola AF, Labombarda F, Deniselle MCG, Gonzalez SL, Garay L, Meyer M, et al. Progesterone neuroprotection in traumatic CNS injury and motoneuron degeneration. *Frontiers in Neuroendocrinology.* *Front Neuroendocrinol*; 2009. p. 173-87.

111. Asarian L, Geary N. Cyclic estradiol treatment normalizes body weight and restores physiological patterns of spontaneous feeding and sexual receptivity in ovariectomized rats. *Horm Behav.* 2002;42(4):461-71.

112. Schumacher M, Weill-Engerer S, Liere P, Robert F, Franklin RJM, Garcia-Segura LM, et al. Steroid hormones and neurosteroids in normal and pathological aging of the nervous system. *Progress in Neurobiology.* 2003. p. 3-29.

113. Do Rego JL, Seong JY, Burel D, Leprince J, Luu-The V, Tsutsui K, et al. Neurosteroid biosynthesis: Enzymatic pathways and neuroendocrine regulation by neurotransmitters and neuropeptides. *Front Neuroendocrinol*; 2009. p. 259-301. 6/

114. Garcia-Ovejero D, Azcoitia I, DonCarlos LL, Melcangi RC, Garcia-Segura LM. Glia-neuron crosstalk in the neuroprotective mechanisms of sex steroid hormones. *Brain Research Reviews.* 2005. p. 273-86.

115. Garcia-Segura LM, Melcangi RC. Steroids and glial cell function. Vol. 54, *GLIA.*; 2006. p. 485-98.

116. Feeser VR, Loria RM. Modulation of traumatic brain injury using progesterone and the role of glial cells on its neuroprotective actions. *J Neuroimmunol*; 2011 p. 4-12.
117. Hammond GL, Hirvonen J, Vihko R. Progesterone, androstenedione, testosterone, 5 $\alpha$ -dihydrotestosterone and androsterone concentrations in specific regions of the human brain. *J Steroid Biochem*. 1983;18(2):185-9.
118. Guennoun R. Progesterone in the brain: Hormone, neurosteroid and neuroprotectant. *International Journal of Molecular Sciences*. *Int. J. Mol. Sci.* 2020, 21(15), 5271.
119. Brotfain E, E. Gruenbaum S, Boyko M, Kutz R, Zlotnik A, Klein M. Neuroprotection by Estrogen and Progesterone in Traumatic Brain Injury and Spinal Cord Injury. *Curr Neuropharmacol*. 2016;14(6):641-53.
- De Nicola AF, Garay LI, Meyer M, Guennoun R, Sitruk-Ware R, Schumacher M, et al. Neurosteroidogenesis and progesterone anti-inflammatory/neuroprotective effects. *J Neuroendocrinol*. 2018;30(2)
121. Garay L, Gonzalez Deniselle MC, Sitruk-Ware R, Guennoun R, Schumacher M, De Nicola AF. Efficacy of the selective progesterone receptor agonist Nestorone for chronic experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Neuroimmunol*. 2014;276(1-2):89-97.
122. Stein DG, Wright DW, Kellermann AL. Does Progesterone Have Neuroprotective Properties? Vol. 51, *Annals of Emergency Medicine*. Mosby; 2008. p. 164-72.
123. Gilmer LK, Roberts KN, Scheff SW. Efficacy of Progesterone following a Moderate Unilateral Cortical Contusion Injury. *J Neurotrauma*. 2008;25(6):593-602.
124. Toung TJ, Chen TY, Littleton-Kearney MT, Hurn PD, Murphy SJ. Effects of combined estrogen and progesterone on brain infarction in reproductively senescent female rats. *J Cereb*

Blood Flow Metab. 2004;24(10):1160-6.

125. Murphy SJ, Traystman RJ, Hurn PD. Progesterone exacerbates striatal stroke injury in progesterone-deficient female animals. Stroke. 2000;31(5):1173-8.

126. Roof RL, Duvdevani R, Stein DG. Progesterone treatment attenuates brain edema following contusion injury in male and female rats. Restor Neurol Neurosci. 1992 Jan 1;4(6):425-7.

127. Roof RL, Duvdevani R, Stein DG. Gender influences outcome of brain injury: progesterone plays a protective role. Brain Res. 1993 Apr 2;607(1-2):333-6.

128. ROOF RL, REVITAL DUVDEVANI, JOHN W. HEYBURN, STEIN DG. Progesterone Rapidly Decreases Brain Edema Treatment Delayed up to 24 Hours Is Still Effective.pdf. Exp Neurol. 1996;138(2):246-51.

129. Roof RL, Duvdevani R, Braswell L, Stein DG. Progesterone facilitates cognitive recovery and reduces secondary neuronal loss caused by cortical contusion injury in male rats. Exp Neurol. 1994;129(1):64-9.

130. Wright DW, Bauer ME, Hoffman SW, Stein DG. Serum progesterone levels correlate with decreased cerebral edema after traumatic brain injury in male rats. J Neurotrauma .2001;18(9):901-9.

131. Zlotnik A, Gurevich B, Tkachov S, Maoz I, Shapira Y, Teichberg VI. Brain neuroprotection by scavenging blood glutamate. Exp Neurol. 2007 Jan 1;203(1):213-20.

132. Stein DG. Progesterone exerts neuroprotective effects after brain injury.pdf. 2008.

133. Wright DW, Kellermann AL, Hertzberg VS, Clark PL, Frankel M, Goldstein FC, et al. ProTECT: A Randomized Clinical Trial of Progesterone for Acute Traumatic Brain Injury. Ann

Emerg Med. 2007;49(4).

134. Xiao G, Wei J, Yan W, Wang W, Lu Z. Improved outcomes from the administration of progesterone for patients with acute severe traumatic brain injury : a randomized controlled trial.

Crit Care. 2008;12(2):R61.

135. Shakeri M, Boustani MR, Pak N, Panahi F, Salehpour F, Lotfinia I, et al. Effect of progesterone administration on prognosis of patients with diffuse axonal injury due to severe head trauma. Clin Neurol Neurosurg. 2013;115(10):2019-22.

136. Skolnick BE, Maas AI, Narayan RK, van der Hoop RG, MacAllister T, Ward JD, et al. A Clinical Trial of Progesterone for Severe Traumatic Brain Injury. N Engl J Med. 2014 Dec 25;371(26):2467-76.

137. Attella MJ, Nattinville A, Stein DG. Hormonal state affects recovery from frontal cortex lesions in adult female rats. Behav Neural Biol. 1987 Nov 1;48(3):352-67.

138. Li Z, Wang B, Kan Z, Zhang B, Yang Z, Chen J, et al. Progesterone increases circulating endothelial progenitor cells and induces neural regeneration after traumatic brain injury in aged rats. J Neurotrauma. 2012;29(2):343-53.

139. O'Connor CA, Cernak I, Johnson F, Vink R. Effects of progesterone on neurologic and morphologic outcome following diffuse traumatic brain injury in rats. Exp Neurol. 2007 May 1;205(1):145-53.

140. Grossman KJ, Goss CW, Stein DG. Sickness behaviors following medial frontal cortical contusions in male rats. Behav Brain Res. 2011 Feb 2;217(1):202-8.

141. Lösel R, Wehling M. Nongenomic actions of steroid hormones. Nature Reviews Molecular Cell Biology. 2003. p. 46-56. Available from:

<https://www.nature.com/articles/nrm1009>

142. Mani SK. Signaling mechanisms in progesterone–neurotransmitter interactions. *Neuroscience*. 2006;138(3):773-81.

143. Kastner P, Krust A, Turcotte B, Stropp U, Tora L, Gronemeyer H, et al. Two distinct estrogen-regulated promoters generate transcripts encoding the two functionally different human progesterone receptor forms A and B. *EMBO J*. 1990;9(5):1603-14.

144. MACLUSKY NJ, McEWEN BS. Progestin Receptors in Rat Brain: Distribution and Properties of Cytoplasmic Progestin-Binding Sites\*. *Endocrinology*. 1980;106(1):192-202.

145. Parsons B, Rainbow TC, MacLusky NJ, McEwen BS. Progestin receptor levels in rat hypothalamic and limbic nuclei. *J Neurosci*. 1982;2(10):1446-52.

146. Labombarda F, Guennoun R, Gonzalez S, Roig P, Lima A, Schumacher M, et al. Immunocytochemical evidence for a progesterone receptor in neurons and glial cells of the rat spinal cord. *Neurosci Lett*. 2000;288(1):29-32.

147. Schumacher M, Mattern C, Ghomari A, Oudinet JP, Liere P, Labombarda F, et al. Revisiting the roles of progesterone and allopregnanolone in the nervous system: Resurgence of the progesterone receptors. *Progress in Neurobiology*. 2014 . p. 6-39.

148. Baulieu EE, Godeau F, Schorderet M, Schorderet-Slatkine S. Steroid-induced meiotic division in *Xenopus laevis* oocytes: Surface and calcium. *Nature*. *Nature*; 1978. p. 593-8.  
Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30046/>

149. Hagan CR, Daniel AR, Dressing GE, Lange CA. Role of phosphorylation in progesterone receptor signaling and specificity. Vol. 357, *Molecular and Cellular Endocrinology*. Elsevier; 2012. p. 43-9.

150. Narayanan R, Adigun AA, Edwards DP, Weigel NL. Cyclin-Dependent Kinase Activity Is Required for Progesterone Receptor Function: Novel Role for Cyclin A/Cdk2 as a Progesterone Receptor Coactivator. *Mol Cell Biol*. 2005;25(1):264-77. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15601848/>
151. Boonyaratanakornkit V, Bi Y, Rudd M, Edwards DP. The role and mechanism of progesterone receptor activation of extra-nuclear signaling pathways in regulating gene transcription and cell cycle progression. *Steroids*. 2008;73(9-10):922-8.
152. VanLandingham JW, Cutler SM, Virmani S, Hoffman SW, Covey DF, Krishnan K, et al. The enantiomer of progesterone acts as a molecular neuroprotectant after traumatic brain injury. *Neuropharmacology*. 2006;51(6):1078-85.
153. Katz DI, Alexander MP. Traumatic Brain Injury: Predicting Course of Recovery and Outcome for Patients Admitted to Rehabilitation. *Arch Neurol*. 1994;51(7):661-70.
154. Cutler SM, Cekic M, Miller DM, Wali B, VanLandingham JW, Stein DG. Progesterone Improves Acute Recovery after Traumatic Brain Injury in the Aged Rat. *J Neurotrauma*. 2007;24(9):1475-86.
155. Guennoun R, Labombarda F, Gonzalez Deniselle MC, Liere P, De Nicola AF, Schumacher M. Progesterone and allopregnanolone in the central nervous system: Response to injury and implication for neuroprotection. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2015. 146:48-61. 48-61.
156. Stanczyk FZ, Hapgood JP, Winer S, Mishell DR. Progestogens used in postmenopausal hormone therapy: Differences in their pharmacological properties, intracellular actions, and clinical effects. *Endocr Rev*. 2013;34(2):171-208.



157. Labombarda F, Ghomari AM, Liere P, De Nicola AF, Schumacher M, Guennoun R. Neuroprotection by steroids after neurotrauma in organotypic spinal cord cultures : A key role for progesterone receptors and steroidal modulators of GABAA receptors. *Neuropharmacology*. 2013;71 :46-55. Available from : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23542439/>
158. Meyer C, Schmid R, Scriba PC, Wehling M. Purification and partial sequencing of high-affinity progesterone-binding site(s) from porcine liver membranes. *Eur J Biochem* \. 1996;239(3):726-31.
159. Selmin O, Lucier GW, Clark GC, Tritscher AM, Vanden Heuvel JP, Gastel JA, et al. Isolation characterization of a novel gene induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in rat liver. *Carcinogenesis*. 1996;17(12):2609-15.
160. Meffre D, Delespierre B, Goué zou M, Leclerc P, Vinson GP, Schumacher M, et al. The membrane-associated progesterone-binding protein 25-Dx is expressed in brain regions involved in water homeostasis and is up-regulated after traumatic brain injury. *J Neurochem*. 2005;93(5):1314-26.
161. Labombarda F, Gonzalez SL, Deniselle MCG, Vinson GP, Schumacher M, De Nicola AF, et al. Effects of injury and progesterone treatment on progesterone receptor and progesterone binding protein 25-Dx expression in the rat spinal cord. *J Neurochem*. 2003;87(4):902-13.
162. Zhu Y, Rice CD, Pang Y, Pace M, Thomas P. Cloning, expression, and characterization of a membrane progestin receptor and evidence it is an intermediary in meiotic maturation of fish oocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(5):2231-6.
163. Pang Y, Dong J, Thomas P. Characterization, neurosteroid binding and brain distribution of human membrane progesterone receptors  $\delta$  and  $\epsilon$  (mPR $\delta$  and mPR $\epsilon$ ) and mPR $\delta$  involvement

in neurosteroid inhibition of apoptosis. *Endocrinology*. 2013;154(1):283-95.

164. Thomas P, Pang Y, Zhu Y, Detweiler C, Doughty K. Multiple rapid progestin actions and progestin membrane receptor subtypes in fish. In : *Steroids*. *Steroids*; 2004. p. 567-73.

165. Bramlett HM, Dietrich WD. Neuropathological Protection after Traumatic Brain Injury in Intact Female Rats Versus Males or Ovariectomized Females. *J Neurotrauma*. 2001 Sep;18(9):891-900.

166. Z. S, MOHAMMAD K, N. S, N. N, VAHID S. EFFECT OF COMBINED ADMINISTRATION OF ESTROGEN AND PROGESTERONE ON BRAIN EDEMA AND NEUROLOGICAL OUTCOME AFTER TRAUMATIC BRAIN INJURY IN FEMALE RATS. *IRANIAN JOURNAL OF ENDOCRINOLOGY AND METABOLISM (IJEM)*; 2009. p. 629-38.

167. Khaksari M, Soltani Z, Shahrokhi N, Moshtaghi G, Asadikaram G. The role of estrogen and progesterone, administered alone and in combination, in modulating cytokine concentration following traumatic brain injury. *Can J Physiol Pharmacol*. 2011 Jan;89(1):31-40.

168. Maghool F, Khaksari M, siahposht khachki A. Differences in brain edema and intracranial pressure following traumatic brain injury across the estrous cycle: Involvement of female sex steroid hormones. *Brain Res*. 2013;1497:61-72.

169. Brinton RD. The healthy cell bias of estrogen action: mitochondrial bioenergetics and neurological implications. *Trends Neurosci*; 2008;31(10):529-37..

170. Bergold PJ. Treatment of traumatic brain injury with anti-inflammatory drugs. Vol. 275, *Experimental Neurology*. Academic Press Inc.; 2016. p. 367-80.

171. Cutler SM, Pettus EH, Hoffman SW, Stein DG. Tapered progesterone withdrawal

enhances behavioral and molecular recovery after traumatic brain injury. *Exp Neurol.* 2005;195(2):423-9.

172. Kumon Y, Kim SC, Tompkins P, Stevens A, Sakaki S, Loftus CM. Neuroprotective effect of postischemic administration of progesterone in spontaneously hypertensive rats with focal cerebral ischemia. *J Neurosurg.* 2000;92(5):848-52.

173. Khaksari M, Soltani Z, Shahrokhi N, Moshtaghi G, Asadikaram G. The role of estrogen and progesterone, administered alone and in combination, in modulating cytokine concentration following traumatic brain injury. *Can J Physiol Pharmacol.* 2011;89(1):31-40.

174. Khaksari M, Maghool F, Asadikaram G, Hajializadeh Z. Effects of sex steroid hormones on neuromedin S and neuromedin U2 receptor expression following experimental traumatic brain injury. *Iran J Basic Med Sci.* 2016;19(10):1080-9.

175. Roof RL, Duvdevani R, Braswell L, Stein DG. Progesterone facilitates cognitive recovery and reduces secondary neuronal loss caused by cortical contusion injury in male rats. *Exp Neurol.* 1994;129(1):64-9.

176. Peterson TC, Anderson GD, Kantor ED, Hoane MR. A comparison of the effects of nicotinamide and progesterone on functional recovery of cognitive behavior following cortical contusion injury in the rat. *J Neurotrauma.* 2012;29(18):2823-30.

177. Cutler SM, Cekic M, Miller DM, Wali B, VanLandingham JW, Stein DG. Progesterone Improves Acute Recovery after Traumatic Brain Injury in the Aged Rat. *J Neurotrauma.* 2007;24(9):1475-86.

178. Djebaili M, Guo Q, Pettus EH, Hoffman SW, Stein DG. The Neurosteroids Progesterone and Allopregnanolone Reduce Cell Death, Gliosis, and Functional Deficits after Traumatic Brain

Injury in Rats. *J Neurotrauma*. 2005 Jan;22(1):106-18.

179. Cekic M, Cutler SM, VanLandingham JW, Stein DG. Vitamin D deficiency reduces the benefits of progesterone treatment after brain injury in aged rats. *Neurobiol Aging*. 2011;32(5):864-74.

Chen G, Shi J, Hu Z, Hang C. Inhibitory effect on cerebral inflammatory response 180. following traumatic brain injury in rats : A potential neuroprotective mechanism of N-Acetylcysteine. *Mediators Inflamm*. 2008;2008 :716458.

181. Mofid B, Soltani Z, Khaksari M, Shahrokhi N, Nakhaee N, Karamouzian S, et al. What are the progesterone-induced changes of the outcome and the serum markers of injury, oxidant activity and inflammation in diffuse axonal injury patients? *Int Immunopharmacol*. 2016;32 :103-10.

182. Anderson GD, Farin FM, Bammler TK, Beyer RP, Swan AA, Wilkerson HW, et al. The effect of progesterone dose on gene expression after traumatic brain injury. *J Neurotrauma*. 2011;28(9):1827-43.

183. Roof RL, Hoffman SW, Stein DG. Progesterone protects against lipid peroxidation following traumatic brain injury in rats. *Mol Chem Neuropathol*. 1997;31(1):1-11.

184. Pierson RC, Lyons AM, Greenfield LJ. Gonadal steroids regulate GABAA receptor subunit mRNA expression in NT2-N neurons. *Mol Brain Res*. 2005;138(2):105-15.

185. Smith SS. Progesterone administration attenuates excitatory amino acid responses of cerebellar Purkinje cells. *Neuroscience*. 1991 Jan 1;42(2):309-20.

Cui J, Shen Y, Li R. Estrogen synthesis and signaling pathways during aging : From periphery to brain. *Trends Mol Med*. 2013;19(3):197-209.

187. Neese SL, Clough RW, Banz WJ, Smith DC. Z-Bisdehydrodoisynolic acid (Z-BDDA): An estrogenic seco-steroid that enhances behavioral recovery following moderate fluid percussion brain injury in male rats. *Brain Res.* 2010;1362:93-101.
188. Day NL, Floyd CL, D'Alessandro TL, Hubbard WJ, Chaudry IH. 17  $\beta$ -Estradiol Confers Protection after Traumatic Brain Injury in the Rat and Involves Activation of G Protein-Coupled Estrogen Receptor 1. *J Neurotrauma.* 2013;30(17):1531-41.
189. Groswasser Z, Cohen M, Keren O. Female TBI patients recover better than males. *Brain Inj.* 1998;12(9):805-8.
190. Marino M, Galluzzo P, Ascenzi P. Estrogen Signaling Multiple Pathways to Impact Gene Transcription. *Curr Genomics.* 2006 Dec 31;7(8):497-508.
- Li R, Cui J, Shen Y. Brain sex matters: Estrogen in cognition and Alzheimer's disease. *Mol Cell Endocrinol.* 2014;389(1-2):13-21.
192. Mitra SW, Hoskin E, Yudkovitz J, Pear L, Wilkinson HA, Hayashi S, et al. Immunolocalization of estrogen receptor  $\beta$  in the mouse brain: Comparison with estrogen receptor  $\alpha$ . *Endocrinology.* 2003;144(5):2055-67.
193. Thammacharoen S, Geary N, Lutz TA, Ogawa S, Asarian L. Divergent effects of estradiol and the estrogen receptor- $\alpha$  agonist PPT on eating and activation of PVN CRH neurons in ovariectomized rats and mice. *Brain Res.* 2009;1268:88-96.
194. Tiwari-Woodruff S, Voskuhl RR. Neuroprotective and anti-inflammatory effects of estrogen receptor ligand treatment in mice. *J Neurol Sci.* 2009;286(1-2):81-5.
195. Brown CM, Mulcahey TA, Filipek NC, Wise PM. Production of proinflammatory cytokines and chemokines during neuroinflammation: Novel roles for estrogen receptors  $\alpha$  and

$\beta$ . *Endocrinology*. 2010;151(10):4916-25.

196. Harris HA, Katzenellenbogen JA, Katzenellenbogen BS. Characterization of the biological roles of the estrogen receptors, ER $\alpha$  and ER $\beta$ , in estrogen target tissues in vivo through the use of an ER $\alpha$ -selective ligand. *Endocrinology*. 2002;143(11):4172-7.

197. Sárvári M, Hrabovszky E, Kalló I, Solymosi N, Tóth K, Likó I, et al. Estrogens regulate neuroinflammatory genes via estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$  in the frontal cortex of middle-aged female rats. *J Neuroinflammation*. 2011;8(1):82.

198. Zhang YQ, Shi J, Rajakumar G, Day AL, Simpkins JW. Effects of gender and estradiol treatment on focal brain ischemia. *Brain Res*. 1998;784(1-2):321-4.

199. Baker AE, Brautigam VM, Watters JJ. Estrogen modulates microglial inflammatory mediator production via interactions with estrogen receptor  $\beta$ . *Endocrinology*. 2004 Nov;145(11):5021-32.

200. Vegeto E, Benedusi V, Maggi A. Estrogen anti-inflammatory activity in brain: A therapeutic opportunity for menopause and neurodegenerative diseases. *Front Neuroendocrinol*. 2008 Oct; 29(4): 507-519.

201. Dubal DB, Rau SW, Shughrue PJ, Zhu H, Yu J, Cashion AB, et al. Differential modulation of estrogen receptors (ERs) in ischemic brain injury: A role for ER $\alpha$  in estradiol-mediated protection against delayed cell death. *Endocrinology*. 2006;147(6):3076-84.

202. Suzuki S, Gerhold LM, Böttner M, Rau SW, Dela Cruz C, Yang E, et al. Estradiol enhances neurogenesis following ischemic stroke through estrogen receptors  $\alpha$  and  $\beta$ . *J Comp Neurol*. 2007;500(6):1064-75.

203. Vegeto E, Belcredito S, Etteri S, Ghisletti S, Brusadelli A, Meda C, et al. Estrogen

receptor- $\alpha$  mediates the brain antiinflammatory activity of estradiol. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(16):9614-9.

204. Barreto G, Santos-Galindo M, Diz-Chaves Y, Pernía O, Carrero P, Azcoitia I, et al. Selective estrogen receptor modulators decrease reactive astrogliosis in the injured brain : Effects of aging and prolonged depletion of ovarian hormones. *Endocrinology*. 2009;150(11):5010-5.

205. Waters EM, Yildirim M, Janssen WGM, Lou WYW, McEwen BS, Morrison JH, et al. Estrogen and aging affect the synaptic distribution of estrogen receptor beta-immunoreactivity in the CA1 region of female rat hippocampus. *Brain Res*. 2011;1379:86-97.

206. Foster TC. Role of estrogen receptor alpha and beta expression and signaling on cognitive function during aging. *Hippocampus*. 2012;22(4):656-69.

207. Khaksari M, Hajjalizadeh Z, Shahrokhi N, Esmaeili-Mahani S. Changes in the gene expression of estrogen receptors involved in the protective effect of estrogen in rat's traumatic brain injury. *Brain Res*. 2015;1618:1-8.

208. Böttner M, Thelen P, Jarry H. Estrogen receptor beta: Tissue distribution and the still largely enigmatic physiological function. 2014 Jan;139:245-51.

209. Morales DE, McGowan KA, Grant DS, Maheshwari S, Bhartiya D, Cid MC, et al. Estrogen promotes angiogenic activity in human umbilical vein endothelial cells in vitro and in a murine model. *Circulation*. 1995;91(3):755-63.

210. Wittmann BM, Sherk A, McDonnell DP. Definition of functionally important mechanistic differences among selective estrogen receptor down-regulators. *Cancer Res*. 2007;67(19):9549-60.

211. Mosselman S, Polman J, Dijkema R. ER $\beta$ : Identification and characterization of a novel

human estrogen receptor. FEBS Lett. 1996;392(1):49-53.

212. Das A, Smith JA, Gibson C, Varma AK, Ray SK, Banik NL. Estrogen receptor agonists and estrogen attenuate TNF- $\alpha$ -induced apoptosis in VSC4.1 motoneurons. J Endocrinol. 2011;208(2):171-82.

213. Chakrabarti S, Lekontseva O, Davidge ST. Estrogen is a modulator of vascular inflammation. IUBMB Life. 2008;60(6):376-82.

214. Le Romancer M, Treilleux I, Leconte N, Robin-Lespinasse Y, Sentis S, Bouchekioua-Bouzaghrou K, et al. Regulation of Estrogen Rapid Signaling through Arginine Methylation by PRMT1. Mol Cell. 2008 Jul 25;31(2):212-21.

215. Levin ER. Plasma membrane estrogen receptors. Vol. 20, Trends in Endocrinology and Metabolism. Elsevier Current Trends; 2009:20(10):477-482.

216. Alexander A, Irving AJ, Harvey J. Emerging roles for the novel estrogen-sensing receptor GPER1 in the CNS. Neuropharmacology. 2017;113(Pt B):652-60.

217. Brailoiu E, Dun SL, Brailoiu GC, Mizuo K, Sklar LA, Oprea TI, et al. Distribution and characterization of estrogen receptor G protein-coupled receptor 30 in the rat central nervous system. J Endocrinol. 2007;193(2):311-21.

218. Srivastava DP, Evans PD. G-protein oestrogen receptor 1: Trials and tribulations of a membrane oestrogen receptor. J Neuroendocrinol. 2013;25(11):1219-30.

219. Filardo E, Quinn J, Pang Y, Graeber C, Shaw S, Dong J, et al. Activation of the novel estrogen receptor G protein-coupled receptor 30 (GPR30) at the plasma membrane. Endocrinology. 2007;148(7):3236-45.

220. Revankar CM, Cimino DF, Sklar LA, Arterburn JB, Prossnitz ER. A transmembrane



intracellular estrogen receptor mediates rapid cell signaling. *Science* (80- ). 2005 Mar 11;307(5715):1625-30.

221. Isensee J, Meoli L, Zazzu V, Nabzdyk C, Witt H, Soewarto D, et al. Expression Pattern of G Protein-Coupled Receptor 30 in LacZ Reporter Mice. *Endocrinology*. 2009;150(4):1722-30.

222. Nappi RE, Sinforiani E, Mauri M, Bono G, Polatti F, Nappi G. Memory Functioning at Menopause: Impact of Age in Ovariectomized Women. *Gynecol Obstet Invest*. 1999;47(1):29-36.

223. Gibbs RB, Johnson DA. Sex-specific effects of gonadectomy and hormone treatment on acquisition of a 12-arm radial maze task by Sprague Dawley rats. *Endocrinology*. 2008;149(6):3176-83.

224. Choleris E, Clipperton-Allen AE, Phan A, Valsecchi P, Kavaliers M. Estrogenic involvement in social learning, social recognition and pathogen avoidance. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 2012; 33 (2): 140-159 .

225. Hammond R, Mauk R, Ninaci D, Nelson D, Gibbs RB. Chronic treatment with estrogen receptor agonists restores acquisition of a spatial learning task in young ovariectomized rats. *Horm Behav*. 2009;56(3):309-14.

226. Hammond R, Nelson D, Kline E, Gibbs RB. Chronic treatment with a GPR30 antagonist impairs acquisition of a spatial learning task in young female rats. *Horm Behav*. 2012 Sep;62(4):367-74.

227. Hawley WR, Grissom EM, Moody NM, Dohanich GP, Vasudevan N. Activation of G-protein-coupled receptor 30 is sufficient to enhance spatial recognition memory in ovariectomized rats. *Behav Brain Res*. 2014;262:68-73 .

228. Ervin KSJ, Mulvale E, Gallagher N, Roussel V, Choleris E. Activation of the G protein-coupled estrogen receptor, but not estrogen receptor  $\alpha$  or  $\beta$ , rapidly enhances social learning. *Psychoneuroendocrinology*. 2015;58:51-66.
229. Frick KM. Molecular mechanisms underlying the memory-enhancing effects of estradiol. *Horm Behav*. 2015;74:4-18.
230. Gibbs RB, Nelson D, Hammond R. Role of GPR30 in mediating estradiol effects on acetylcholine release in the hippocampus. *Horm Behav*. 2014;66(2):339-45.
231. Kövesdi E, Szabó-Meleg E, Abrahám IM. The role of estradiol in traumatic brain injury: Mechanism and treatment potential. *Int J Mol Sci*. 2021 Jan; 22(1): 11.
232. Bake S, Sohrabji F.  $17\beta$ -Estradiol Differentially Regulates Blood-Brain Barrier Permeability in Young and Aging Female Rats. *Endocrinology*. 2004;145(12):5471-5.
233. Duckles SP, Krause DN. Mechanisms of cerebrovascular protection: oestrogen, inflammation and mitochondria. *Acta Physiol*. 2011;203(1):149-54.
234. Zheng J, Ramirez VD. Rapid inhibition of rat brain mitochondrial proton F<sub>0</sub>F<sub>1</sub>-ATPase activity by estrogens: Comparison with Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase of porcine cortex. *Eur J Pharmacol*. 1999 Feb 26;368(1):95-102.
235. Sarkar S, Jun S, Simpkins JW. Estrogen amelioration of A $\beta$ -induced defects in mitochondria is mediated by mitochondrial signaling pathway involving ER $\beta$ , AKAP and Drp1. *Brain Res*. 2015;1616:101-11.
236. Conti A, Gulì C, la Torre D, Tomasello C, Angileri FF, Aguenouz M. Role of inflammation and oxidative stress mediators in Gliomas. *Cancers (Basel)*. 2010; 2(2): 693-712.
237. Mooradian AD. Antioxidant properties of steroids. *J Steroid Biochem Mol Biol*.

1993;45(6):509-11.

238. Filardo EJ, Quinn JA, Bland KI, Frackelton J. Estrogen-induced activation of Erk-1 and Erk-2 requires the G protein-coupled receptor homolog, GPR30, and occurs via trans-activation of the epidermal growth factor receptor through release of HB-EGF. *Mol Endocrinol.* 2000;14(10):1649-60.

239. Engler-Chiurazzi EB, Brown CM, Povroznik JM, Simpkins JW. Estrogens as neuroprotectants: Estrogenic actions in the context of cognitive aging and brain injury. *Prog Neurobiol.* 2017;157:188-211.

240. Good M, Day M, Muir JL. Cyclical changes in endogenous levels of oestrogen modulate the induction of LTD and LTP in the hippocampal CA1 region. *Eur J Neurosci.* 1999;11(12):4476-80.

241. Milner TA, Ayoola K, Drake CT, Herrick SP, Tabori NE, McEwen BS, et al. Ultrastructural localization of estrogen receptor  $\beta$  immunoreactivity in the rat hippocampal formation. *J Comp Neurol.* 2005;491(2):81-95.

242. Ruiz-Palmero I, Hernando M, Garcia-Segura LM, Arevalo MA. G protein-coupled estrogen receptor is required for the neurotogenic mechanism of  $17\beta$ -estradiol in developing hippocampal neurons. *Mol Cell Endocrinol.* 2013;372(1-2):105-15.

243. Packard MG. Posttraining estrogen and memory modulation. *Horm Behav.* 1998;34(2):126-39.

244. Robert B. Gibbs. Estrogen therapy and cognition: a review of the cholinergic hypothesis. *Endocr Rev.* 2010; 31(2): 224-253.

245. Sohrabji F, Bake S, Lewis DK. Age-related changes in brain support cells: Implications

for stroke severity. *Neurochem Int.* 2013 Oct;63(4):291-301.

246. Acosta JI, Hiroi R, Camp BW, Talboom JS, Bimonte-Nelson HA. An update on the cognitive impact of clinically-used hormone therapies in the female rat: Models, mazes, and mechanisms. *Brain Res.* 2013;1514:18-39.

247. Zhang YM, Bhavnani BR. Glutamate-induced apoptosis in neuronal cells is mediated via caspase-dependent and independent mechanisms involving calpain and caspase-3 proteases as well as apoptosis inducing factor (AIF) and this process is inhibited by equine estrogens. *BMC Neurosci.* 2006;7:49.

248. Greb RR, Heikinheimo O, Williams RF, Hodgen GD, Goodman AL. Vascular endothelial growth factor in primate endometrium is regulated by oestrogen-receptor and progesterone-receptor ligands in vivo. *Hum Reprod.* 1997;12(6):1280-92. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9222018/>

249. Seo KH, Ko HM, Choi JH, Jung HH, Chun YH, Choi IW, et al. Essential role for platelet-activating factor-induced NF- $\kappa$ B activation in macrophage-derived angiogenesis. *Eur J Immunol.* 2004;34(8):2129-37.

250. Sehajpal J, Kaur T, Bhatti R, Singh AP. Role of progesterone in melatonin-mediated protection against acute kidney injury. *J Surg Res.* 2014;191(2):441-7.

251. Crandall C, Palla S, Reboussin B, Hu P, Barrett-Connor E, Reuben D, et al. Cross-Sectional Association between Markers of Inflammation and Serum Sex Steroid Levels in the Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions Trial. *J Women's Heal.* 2006;15(1):14-23.

252. Marmarou A, Abd-Elfattah Foda MA, Van den Brink W, Campbell J, Kita H, Demetriadou K. A new model of diffuse brain injury in rats. Part I: Pathophysiology and

biomechanics. *J Neurosurg.* 1994;80(2):291-300.

253. Shamsi Meymandi M, Soltani Z, Sepehri G, Amiresmaili S, Farahani F, Moeini Aghtaei M. Effects of pregabalin on brain edema, neurologic and histologic outcomes in experimental traumatic brain injury. *Brain Res Bull.* 2018 Jun 1;140:169-75.

254. Gilkes C, Whitfield P. Intracranial pressure and cerebral blood flow. a pathophysiological and clinical perspective. 2009. p. 137-44.

255. Johnstone VPA, Wright DK, Wong K, O'Brien TJ, Rajan R, Shultz SR. Experimental Traumatic Brain Injury Results in Long-Term Recovery of Functional Responsiveness in Sensory Cortex but Persisting Structural Changes and Sensorimotor, Cognitive, and Emotional Deficits. *J Neurotrauma.* 2015;32(17):1333-46.

256. Shultz SR, Bao F, Omana V, Chiu C, Brown A, Cain DP. Repeated mild lateral fluid percussion brain injury in the rat causes cumulative long-term behavioral impairments, neuroinflammation, and cortical loss in an animal model of repeated concussion. *J Neurotrauma.* 2012;29(2):281-94.

257. Bashiri H, Rezayof A, Sahebgharani M, Tavangar SM, Zarrindast MR. Modulatory effects of the basolateral amygdala  $\alpha 2$ -adrenoceptors on nicotine-induced anxiogenic-like behaviours of rats in the elevated plus maze. *Neuropharmacology.* 2016 ;105:478-86.

258. Gabrielian L, Willshire LW, Helps SC, van den Heuvel C, Mathias J, Vink R. Intracranial Pressure Changes following Traumatic Brain Injury in Rats: Lack of Significant Change in the Absence of Mass Lesions or Hypoxia. *J Neurotrauma.* 2011;28(10):2103-11.

259. Roof RL, Hoffman SW, Stein DG. Progesterone protects against lipid peroxidation following traumatic brain injury in rats. *Mol Chem Neuropathol.* 1997;31(1):1-11.

260. WANG X, ZHANG J, YANG Y, DONG W, WANG F, WANG, et al. Progesterone attenuates cerebral edema in neonatal rats with hypoxic-ischemic brain damage by inhibiting the expression of matrix metalloproteinase-9 and aquaporin-4. *Exp Ther Med*. 2013;6:263-7.
261. Roof RL, Duvdevani R, Heyburn JW, Stein DG. Progesterone Rapidly Decreases Brain Edema: Treatment Delayed up to 24 Hours Is Still Effective. *Exp Neurol*. 1996 Apr 1;138(2):246-51.
262. Feng Y, Bhatt AJ. Corticosteroid responses following hypoxic preconditioning provide neuroprotection against subsequent hypoxic-ischemic brain injury in the newborn rats. *Int J Dev Neurosci*. 2015;44:6-13.
263. Zhang Z, Yang R, Cai W, Bai Y, Sokabe M, Chen L. Treatment with progesterone after focal cerebral ischemia suppresses proliferation of progenitor cells but enhances survival of newborn neurons in adult male mice. *Neuropharmacology*. 2010;58(6):930-9.
264. Benzel EC, Gelder FB. Correlation between Sex Hormone Binding and Peritumoral Edema in Intracranial Meningiomas. *Neurosurgery*. 1988;23(2):169-74.
265. Kawoos U, McCarron RM, Auker CR, Chavko M. Advances in intracranial pressure monitoring and its significance in managing traumatic brain injury. *Int J Mol Sci*. 2015 Dec; 16(12):28979-28997.
266. Marmarou A. The pathophysiology of brain edema and elevated intracranial pressure. *Cleve Clin J Med*. 2004;71 Suppl 1:S6-8.
267. Marmarou A, Signoretti S, Fatouros PP, Portella G, Aygok GA, Bullock MR. Predominance of cellular edema in traumatic brain swelling in patients with severe head injuries. *J Neurosurg*. 2008;104(5):720-30.

268. Neal CJ, Lee EY, Gyorgy A, Ecklund JM, Agoston D V., Ling GSF. Effect of Penetrating Brain Injury on Aquaporin-4 Expression Using a Rat Model. *J Neurotrauma*. 2007;24(10):1609-17.
269. Engelborghs K, Verlooy J, Van Reempts J, Van Deuren B, Van de Ven M, Borgers M. Temporal changes in intracranial pressure in a modified experimental model of closed head injury. *J Neurosurg*. 2009;89(5):796-806.
270. Wise PM, Dubal DB, Wilson ME, Rau SW, Liu Y. Estrogens: Trophic and Protective Factors in the Adult Brain. *Front Neuroendocrinol* [Internet]. 2001 Jan [cited 2019 May 1];22(1):33-66. Available from: <http://www.idealibrary.com>
271. Krause DN, Geary GG, McNeill AM, Ospina J, Duckles SP. Impact of hormones on the regulation of cerebral vascular tone. *Int Congr Ser*. 2002;1235(C):395-9.
272. He J, Evans CO, Hoffman SW, Oyesiku NM, Stein DG. Progesterone and allopregnanolone reduce inflammatory cytokines after traumatic brain injury. *Exp Neurol*. 2004;189(2):404-12.
273. Marik P, Chen K, Varon J, Fromm R, Sternbach GL. Management of increased intracranial pressure: A review for clinicians. *J Emerg Med*. 1999;17(4):711-9.
274. Cai W, Sokabe M, Che L. Time-Window of Progesterone Neuroprotection After Stroke and Its Underlying Molecular Mechanisms. In: *Advances in the Preclinical Study of Ischemic Stroke*. InTech; 2012. p. 479-96.
275. Zhang Z, Yang R, Zhou R, Li L, Sokabe M, Chen L. Progesterone promotes the survival of newborn neurons in the dentate gyrus of adult male mice. *Hippocampus*. 2009 Mar 1;20(3):NA-NA.

276. Baykara B, Aksu I, Buyuk E, Kiray M, Sisman AR, Baykara B, et al. Progesterone treatment decreases traumatic brain injury induced anxiety and is correlated with increased serum IGF-1 levels; Prefrontal cortex, amygdala, hippocampus neuron density; And reduced serum corticosterone levels in immature rats. *Biotech Histochem*. 2013;88(5):250-7.
277. Kawa L, Arborelius UP, Yoshitake T, Kehr J, Hökfelt T, Risling M, et al. Neurotransmitter Systems in a Mild Blast Traumatic Brain Injury Model: Catecholamines and Serotonin. *J Neurotrauma*. 2014;32(16):1190-9.
278. Washington PM, Forcelli PA, Wilkins T, Zapple DN, Parsadonian M, Burns MP. The Effect of Injury Severity on Behavior: A Phenotypic Study of Cognitive and Emotional Deficits after Mild, Moderate, and Severe Controlled Cortical Impact Injury in Mice. *J Neurotrauma*. 2012;29(13):2283-96.
279. Zohar O, Rubovitch V, Milman A, Schreiber S, Pick CG. Behavioral consequences of minimal traumatic brain injury in mice. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*. 2011;71(1):36-45.
280. McCullers DL, Sullivan PG, Scheff SW, Herman JP. Traumatic brain injury regulates adrenocorticosteroid receptor mRNA levels in rat hippocampus. *Brain Res*. 2002;947(1):41-9.
281. Woolf PD, Cox C, Kelly M, Nichols D, McDonald J V., Hamill RW. The Adrenocortical Response to Brain Injury: Correlation with the Severity of Neurologic Dysfunction, Effects of Intoxication, and Patient Outcome. *Alcohol Clin Exp Res*. 1990;14(6):917-21.
282. Walter B, Brust P, Füchtner F, Müller M, Hinz R, Kuwabara H, et al. Age-Dependent Effects of Severe Traumatic Brain Injury on Cerebral Dopaminergic Activity in Newborn and Juvenile Pigs. *J Neurotrauma*. 2004;21(8):1076-89.
283. Sugo N, Hurn PD, Morahan MB, Hattori K, Traystman RJ, DeVries AC. Social Stress



Exacerbates Focal Cerebral Ischemia in Mice. *Stroke*. 2002 Jun;33(6):1660-4.

284. Geddes RI, Peterson BL, Stein DG, Sayeed I. Progesterone Treatment Shows Benefit in Female Rats in a Pediatric Model of Controlled Cortical Impact Injury. McCormick CM, editor. *PLoS One*. 2016 Jan 22;11(1):e0146419.

285. Frye CA, Walf AA, Rhodes ME, Harney JP. Progesterone enhances motor, anxiolytic, analgesic, and antidepressive behavior of wild-type mice, but not those deficient in type 1 5 $\alpha$ -reductase. *Brain Res*. 2004;1004(1-2):116-24.

286. Guennoun R, Zhu X, Fré chou M, Gaignard P, Slama A, Liere P, et al. Steroids in Stroke with Special Reference to Progesterone. *Cell Mol Neurobiol*. 2019 May 9;39(4):551-68.

287. HICKS RR, SMITH DH, LOWENSTEIN DH, MARIE R SAINT, McINTOSH TK. Mild Experimental Brain Injury in the Rat Induces Cognitive Deficits Associated with Regional Neuronal Loss in the Hippocampus. *J Neurotrauma*. 1993;10(4):405-14.

288. Li XJ, He RF, Li S, Li XJ, Li DL. Effects of progesterone on learning and memory and P2X7 receptor expression in the hippocampus after global cerebral ischemia/ reperfusion injury in rats. *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi (Chinese J Appl Physiol)*. 2012;28(5):472-5.

289. Panel Claudia Espinosa-García, Alejandra Aguilar-Hernández, Miguel Cervantes G. Effects of progesterone on neurite growth inhibitors in the hippocampus following global cerebral ischemia. *Brain Res*. 2014;1545:23-34.

290. Webster KM, Wright DK, Sun M, Semple BD, Ozturk E, Stein DG, et al. Progesterone treatment reduces neuroinflammation, oxidative stress and brain damage and improves long-term outcomes in a rat model of repeated mild traumatic brain injury. *J Neuroinflammation*. 2015;12(1):238.

291. Newell AJ, Lalitsasivimol D, Willing J, Gonzales K, Waters EM, Milner TA, et al. Progesterone receptor expression in cajal-retzius cells of the developing rat dentate gyrus: Potential role in hippocampus-dependent memory. *J Comp Neurol*. 2018;526(14):2285-300.
292. Velosky AG, Tucker LB, Fu AH, Liu J, McCabe JT. Cognitive performance of male and female C57BL/6J mice after repetitive concussive brain injuries. *Behav Brain Res*. 2017;324:115-24.
293. Marschner L, Schreurs A, Lechat B, Mogensen J, Roebroek A, Ahmed T, et al. Single mild traumatic brain injury results in transiently impaired spatial long-term memory and altered search strategies. *Behav Brain Res*. 2019;365(October 2017):222-30.
294. Barha CK, Ishrat T, Epp JR, Galea LAM, Stein DG. Progesterone treatment normalizes the levels of cell proliferation and cell death in the dentate gyrus of the hippocampus after traumatic brain injury. *Exp Neurol*. 2011;231(1):72-81.
295. Li X, Zhang J, Zhu X, Hou R, Li X, Dong X, et al. Effects of progesterone on hippocampal ultrastructure and expression of inflammatory mediators in neonatal rats with hypoxic-ischemic brain injury. *Exp Ther Med*. 2014;7(5):1311-6.
296. Uysal N, Baykara B, Kiray M, Cetin F, Aksu I, Dayi A, et al. Combined treatment with progesterone and magnesium sulfate positively affects traumatic brain injury in immature rats. *Turk Neurosurg*. 2013;23(2):129-37.
297. Zhu X, Fré chou M, Schumacher M, Guennoun R. Cerebroprotection by progesterone following ischemic stroke: Multiple effects and role of the neural progesterone receptors. *J Steroid Biochem Mol Biol [Internet]*. 2019;185:90-102.
298. Zhu X, Fré chou M, Liere P, Zhang S, Pianos A, Fernandez N, et al. A Role of Endogenous

Progesterone in Stroke Cerebroprotection Revealed by the Neural-Specific Deletion of Its Intracellular Receptors. *J Neurosci*. 2017;37(45):10998-1020.

299. Lei B, Mace B, Dawson HN, Warner DS, Laskowitz DT, James ML. Anti-inflammatory effects of progesterone in lipopolysaccharide-stimulated BV-2 microglia. *PLoS One*. 2014;9(7):3-9.

300. Cai W, Zhu Y, Furuya K, Li Z, Sokabe M, Chen L. Two different molecular mechanisms underlying progesterone neuroprotection against ischemic brain damage. *Neuropharmacology*. 2008;55(2):127-38.

301. Jodhka PK, Kaur P, Underwood W, Lydon JP, Singh M. The Differences in Neuroprotective Efficacy of Progesterone and Medroxyprogesterone Acetate Correlate with Their Effects on Brain-Derived Neurotrophic Factor Expression. *Endocrinology*. 2009;150(7):3162-8.

302. Luoma JJ, Kelley BG, Mermelstein PG. Progesterone inhibition of voltage-gated calcium channels is a potential neuroprotective mechanism against excitotoxicity. *Steroids*. 2011 Aug;76(9):845-55.

303. Chi OZ, Barsoum S, Wen Y, Liu X, Weiss HR.  $17\beta$ -Estradiol Prevents Blood-brain Barrier Disruption Induced by VEGF. *Horm Metab Res*. 2004;36(5):272-6.

304. Hoffman GE, Merchenthaler I, Zup SL. Neuroprotection by Ovarian Hormones in Animal Models of Neurological Disease. *Endocrine*. 2006;29(2):217-32.

305. Gonzales RJ, Ansar S, Duckles SP, Krause DN. Androgenic/estrogenic balance in the male rat cerebral circulation: metabolic enzymes and sex steroid receptors. *J Cereb blood flow Metab*. 2007;27(11):1841-52.

306. Baker AE, Brautigam VM, Watters JJ. Estrogen Modulates Microglial Inflammatory Mediator Production via Interactions with Estrogen Receptor  $\beta$ . *Endocrinology*. 2004 Nov 1;145(11):5021-32.
307. Khaksari M, Abbasloo E, Dehghan F, Soltani Z, Asadikaram G. The brain cytokine levels are modulated by estrogen following traumatic brain injury: Which estrogen receptor serves as modulator? *Int Immunopharmacol*. 2015;28(1):279-87.
308. Shin JA, Yoon JC, Kim M, Park E-M. Activation of classical estrogen receptor subtypes reduces tight junction disruption of brain endothelial cells under ischemia/reperfusion injury. *Free Radic Biol Med*. 2016 Mar;92:78-89.
309. Sawada M, Alkayed NJ, Goto S, Crain BJ, Traystman RJ, Shaivitz A, et al. Estrogen Receptor Antagonist ICI182,780 Exacerbates Ischemic Injury in Female Mouse. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2000 Jan 31;20(1):112-8.
310. Maggioli E, McArthur S, Mauro C, Kieswich J, Kusters DHM, Reutelingsperger CPM, et al. Estrogen protects the blood-brain barrier from inflammation-induced disruption and increased lymphocyte trafficking. *Brain Behav Immun*. 2016;51:212-22.
311. Zhao T-Z, Ding Q, Hu J, He S-M, Shi F, Ma L-T. GPER expressed on microglia mediates the anti-inflammatory effect of estradiol in ischemic stroke. *Brain Behav*. 2016;6(4):1-9.
312. Cheng Q, Meng J, Wang X, Kang W, Tian Z, Zhang K, et al. G-1 exerts neuroprotective effects through G protein-coupled estrogen receptor 1 following spinal cord injury in mice. *Biosci Rep*. 2016;36(4):373-.
313. Bao Y-J, Li L-Z, Li X-G, Wang Y-J. 17Beta-estradiol differentially protects cortical pericontusional zone from programmed cell death after traumatic cerebral contusion at distinct

- stages via non-genomic and genomic pathways. *Mol Cell Neurosci*. 2011 Nov;48(3):185-94.
314. Zhao T-Z, Shi F, Hu J, He S-M, Ding Q, Ma L-T. GPER1 mediates estrogen-induced neuroprotection against oxygen-glucose deprivation in the primary hippocampal neurons. *Neuroscience*. 2016;328:117-26.
315. Dhandapani KM, Wade FM, Mahesh VB, Brann DW. Astrocyte-Derived Transforming Growth Factor- $\beta$  Mediates the Neuroprotective Effects of 17 $\beta$ -Estradiol: Involvement of Nonclassical Genomic Signaling Pathways. *Endocrinology*. 2005 Jun 1;146(6):2749-59.
316. Jacob J, Sebastian KS, Devassy S, Priyadarsini L, Farook MF, Shameem A, et al. Membrane estrogen receptors: Genomic actions and post transcriptional regulation. *Mol Cell Endocrinol*. 2006;246(1-2):34-41.
317. Heyer A, Hasselblatt M, von Ahsen N, Häfner H, Sirén A-L, Ehrenreich H. In vitro Gender Differences in Neuronal Survival on Hypoxia and in 17 $\beta$ -Estradiol-Mediated Neuroprotection. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2005;25(4):427-30.
318. Xu Y, Traystman RJ, Hurn PD, Wang MM. Neurite-localized estrogen receptor- $\alpha$  mediates rapid signaling by estrogen. *J Neurosci Res*. 2003;74(1):1-11.
319. Lu D, Qu Y, Shi F, Feng D, Tao K, Gao G, et al. Activation of G protein-coupled estrogen receptor 1 (GPER-1) ameliorates blood-brain barrier permeability after global cerebral ischemia in ovariectomized rats. *Biochem Biophys Res Commun*. 2016;477(2):209-14.
320. Pan M-X, Tang J-C, Liu R, Feng Y-G, Wan Q. Effects of estrogen receptor GPR30 agonist G1 on neuronal apoptosis and microglia polarization in traumatic brain injury rats. *Chinese J Traumatol*. 2018;21(4):224-8.
321. Tang H, Zhang Q, Yang L, Dong Y, Khan M, Yang F, et al. Reprint of "GPR30 mediates

- estrogen rapid signaling and neuroprotection". *Mol Cell Endocrinol*. 2014;389(1-2):92-8.
322. Lu H, Ma K, Jin L, Zhu H, Cao R.  $17\beta$ -estradiol rescues damages following traumatic brain injury from molecule to behavior in mice. *J Cell Physiol*. 2018;233(2):1712-22.
323. Handa RJ, Mani SK, Uht RM. Estrogen Receptors and the Regulation of Neural Stress Responses. *Neuroendocrinology*. 2012;96(2):111-8.
324. Hadjimarkou MM, Vasudevan N. GPER1/GPR30 in the brain: Crosstalk with classical estrogen receptors and implications for behavior. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2018;176:57-64.
325. Mitchnick KA, Mendell AL, Wideman CE, Jardine KH, Creighton SD, Muller A-M, et al. Dissociable involvement of estrogen receptors in perirhinal cortex-mediated object-place memory in male rats. *Psychoneuroendocrinology*. 2019;107:98-108.
326. McEwen B. Estrogen Actions Throughout the Brain. *Recent Prog Horm Res*. 2002;57(1):357-84.
327. Wagner AK, Willard LA, Kline AE, Wenger MK, Bolinger BD, Ren D, et al. Evaluation of estrous cycle stage and gender on behavioral outcome after experimental traumatic brain injury. *Brain Res*. 2004;998(1):113-21.
328. Yang L, Zhang Q-G, Zhou C, Yang F, Zhang Y, Wang R, et al. Extranuclear Estrogen Receptors Mediate the Neuroprotective Effects of Estrogen in the Rat Hippocampus. *PLoS One*. 2010;5(5):e9851.
329. Suzuki S, Brown CM, Dela Cruz CD, Yang E, Bridwell DA, Wise PM. Timing of estrogen therapy after ovariectomy dictates the efficacy of its neuroprotective and antiinflammatory actions. *Proc Natl Acad Sci*. 2007;104(14):6013-8.
330. Lynch JF, Winiecki P, Vanderhoof T, Riccio DC, Jasnow AM. Hippocampal cytosolic

estrogen receptors regulate fear generalization in females. *Neurobiol Learn Mem.* 2016;130:83-92.

331. Raval AP, Borges-Garcia R, Javier Moreno W, Perez-Pinzon MA, Bramlett H. Periodic 17 $\beta$ -Estradiol Pretreatment Protects Rat Brain from Cerebral Ischemic Damage via Estrogen Receptor- $\beta$ . Arai K, editor. *PLoS One.* 2013;8(4):e60716.

332. Walf AA, Koonce CJ, Frye CA. Estradiol or diarylpropionitrile decrease anxiety-like behavior of wildtype, but not estrogen receptor beta knockout, mice. *Behav Neurosci.* 2008;122(5):974-81.

333. Ishihara Y, Fujitani N, Sakurai H, Takemoto T, Ikeda-Ishihara N, Mori-Yasumoto K, et al. Effects of sex steroid hormones and their metabolites on neuronal injury caused by oxygen-glucose deprivation/reoxygenation in organotypic hippocampal slice cultures. *Steroids.* 2016;113:71-7.

334. Mitterling KL, Spencer JL, Dziedzic N, Shenoy S, McCarthy K, Waters EM, et al. Cellular and subcellular localization of estrogen and progestin receptor immunoreactivities in the mouse hippocampus. *J Comp Neurol.* 2010;518(14):NA-NA.

335. Kim JK. The Role of G-protein Coupled Estrogen Receptor (GPER/GPR30) in Hippocampal Memory and Cell Signaling in Female Mice. Theses Diss. 2014; Available from: <https://dc.uwm.edu/etd/708>

336. Fitzpatrick JL, Mize AL, Wade CB, Harris JA, Shapiro RA, Dorsa DM. Estrogen-mediated neuroprotection against  $\beta$ -amyloid toxicity requires expression of estrogen receptor  $\alpha$  or  $\beta$  and activation of the MAPK pathway. *J Neurochem.* 2002;82(3):674-82.

337. Duarte-Guterman P, Lieblich SE, Chow C, Galea LAM. Estradiol and GPER Activation

Differentially Affect Cell Proliferation but Not GPER Expression in the Hippocampus of Adult Female Rats. Sutherland R, editor. PLoS One. 2015;10(6):e0129880.

338. Roque C, Mendes-Oliveira J, Duarte-Chendo C, Baltazar G. The role of G protein-coupled estrogen receptor 1 on neurological disorders. *Front Neuroendocrinol.* 2019;55:100786.

339. Galea LAM, Frick KM, Hampson E, Sohrabji F, Choleris E. Why estrogens matter for behavior and brain health. *Neurosci Biobehav Rev.* 2017;76:363-79.

340. Gingerich S, Kim GL, Chalmers JA, Koletar MM, Wang X, Wang Y, et al. Estrogen receptor alpha and G-protein coupled receptor 30 mediate the neuroprotective effects of 17 $\beta$ -estradiol in novel murine hippocampal cell models. *Neuroscience.* 2010;170(1):54-66.

341. Wu Y, Feng D, Lin J, Qu Y, He S, Wang Y, et al. Downregulation of G-protein-coupled receptor 30 in the hippocampus attenuates the neuroprotection of estrogen in the critical period hypothesis. *Mol Med Rep.* 2018;17(4):5716-25.

342. Dennis MK, Burai R, Ramesh C, Petrie WK, Alcon SN, Nayak TK, et al. In vivo effects of a GPR30 antagonist. *Nat Chem Biol.* 2009 3;5(6):421-7.

343. Cheng Q, Meng J, Wang X, Kang W, Tian Z, Zhang K, et al. G-1 exerts neuroprotective effects through G protein-coupled estrogen receptor 1 following spinal cord injury in mice. *Biosci Rep.* 2016;36(4):373.

344. Hart D, Nilges M, Pollard K, Lynn T, Patsos O, Shiel C, et al. Activation of the G-protein coupled receptor 30 (GPR30) has different effects on anxiety in male and female mice. *Steroids.* 2014;81:49-56.



پیوست‌ها

# پیوست شماره ۱

<p>تاریخ: //</p> 	<p>برگه داده ها ایمنی مواد (MSDS)</p> <p>اکریل آمید</p>	
<p>۵ - جایابی</p> <p>روش جابه جایی: برای محلول سازی و توزین پودر آکریل آمید باید حتماً زیر هود شیمیایی، با استفاده از دستکش و ماسک کار شود. شرایط نگهداری: محلول ذخیره در ۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱ تا ۲ ماه پایدار است (در تاریکی)</p>	<p>۱- مشخصات ماده و شرکت سازنده</p> <p>نام: اکریل آمید          نام‌های مترادف: Prop-2- enamide; Acrylic amide          فرمول‌های شیمیایی: C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>NO          آدرس سازنده: Merck KGaA 64271 Darmstadt Germany</p>	
<p>۶- کنترل تماس و حفاظت شخصی</p> <p>تجهیزات لازم در زمان استفاده: هود شیمیایی          حفاظت تنفسی: ماسک          حفاظت دست‌ها: دستکش          حفاظت چشم‌ها: عینک          حفاظت پوست بدن: روپوش</p>	<p>کاربردهای ماده: در صنعت برای سنتز پلی اکریلامید استفاده می شود. حالت فیزیکی: جامد، کریستالی سفید رنگ / بو/ شکل ظاهری: سفید / بی بو/ کریستالی          نقطه ذوب: ۸۲-۸۶ درجه سانتی گراد          نقطه جوش: ۱۲۵ درجه سانتی گراد          نقطه آتش گیری: ۱۳۸ درجه سانتی گراد</p>	
<p>۷- سم شناسی:</p> <p>اثرات تنفسی: دارد          اثرات پوستی: دارد          اثرات بلعیدن: دارد          سرطان زایی: دارد</p>	<p>۲- شناسایی خطرات</p> <p>خطرات ماده: این ماده به شدت نوروکسین بوده و از راه پوست و تنفس به سرعت جذب می شود. آکریل آمید بر تولید مثل اثر سوء دارد و ممکن است سبب بروز ناهنجاریهایی در جنین شود. همچنین امکان دارد سرطانزا باشد. علائم مسمومیت با آکریل آمید عبارتند از: منگی و گیجی، سوزن سوزن شدن، ضعف، عدم تعادل در راه رفتن، اختلال تکلم و لرز.</p> <p>۳- کمک‌های اولیه</p> <p>استنشاق: در صورت تنفس ذرات آکریل آمید، فرد آسیب دیده را به فضای آزاد برسانید و او را به مرکز فوریت‌های پزشکی انتقال دهید.          تماس پوستی: در صورت تماس محلول یا پودر آکریل آمید با پوست، محل تماس را با آب فراوان و صابون به مدت ۱۵ دقیقه شستشو داده و مسئول ایمنی را در جریان قرار دهید.          بلعیدن: در صورت بلعیده شدن اتفاقی محلول آکریل آمید، فرد آسیب دیده را در صورتی که هوشیار باشد وادار به استفراغ کنید و در اسرع وقت به مرکز فوریت‌های پزشکی برسانید.</p>	
<p>۸- قوانین و مقررات</p> <p>هشدارهای R: R20-R28          هشدارهای S: S28/2, S29, S61</p> 	<p>۴- اطفای حریق</p> <p>مواد خاموش کننده: پودر خاموش کننده یا اسپری آب          خطرات ویژه: در صورت حریق این ماده منوکسید کربن آزاد می شود          روش ویژه آتش نشان‌ها: پوشیدن لباس کامل حفاظتی غیر قابل نفوذ</p>	
<p>۱۰- توضیحات</p> <p>دفع پسماندهای آکریل آمید: مواد زائد آکریل آمید شامل ژل و حوله کاغذی آلوده باید در یک کیسه زیپ دار قرار داده شود و برای سوزاندن ارسال گردد.</p>	<p>۹- سایر داده ها</p> <p>۱- در صورت ریختن ژل، میز کار خود را با حوله کاغذی، کاغذ خشک کن یا لایه جذب کننده دیگری بپوشانید          ۲- گیره‌ها، شیشه‌ها و سایر لوازم جانبی سیستم الکتروفورز را بعد از استفاده کاملاً بشوئید          ۳- ژل استفاده شده و اضافی را بعد از بستن کامل، با استفاده از دستکش در کیسه ای جداگانه قرار داده و بعد دور بریزید (آکریل آمید به صورت ژل کاملاً بسته شده اثر سمی کمتری دارد.          ۴- بهتر است به جای پودر آکریل آمید، محلول‌های آماده خریداری و مصرف شوند.</p>	

- 1- LadanAmirkhosravi, MohammadKhaksari\*, ZahraSoltani,SaeedEsmaeili-Mahani, GholamrezaAsadi Karam, MojtabaHoseini. E2-BSA and G1 exert neuroprotective effects and improve behavioral abnormalities following traumatic brain injury: The role of classic and non-classic estrogen receptors. Brain Research 2021.  
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2020.147168>
  
- 2- Ladan Amirkhosravi, Mohammad Khaksari, Vahid Sheibani, Nader Shahrokhi, Sedigheh Amiresmaili, Neda Salmani. Improved spatial memory, neurobehavioral outcomes and neuroprotective effect after progesterone administration in ovariectomized rats with traumatic brain injury: Role of RU486 progesterone receptor antagonist. Iranian Journal of Basic Medical science. 2021.  
<https://doi.org/10.22038/IJBMS.2021.50973.11591>

## **Abstract**

**Introduction and Objectives:** Since female sex hormones of estrogen (E2) and progesterone (P4) have a neuroprotective role after traumatic brain injury (TBI). Therefore, in the present study, the effects of E2 and P4 were evaluated on long-term cognitive function, motor activity, and anxiety-like behavior. Additionally, to determine the role of classical and non-classical E2 receptors in mediating the effects of this hormone followed by TBI, we used the bovine serum albumin (E2-BSA), selective GPR30 agonist (G1), classical receptor antagonist (ICI), and selective GPR30 antagonist (G15). The role of classical P4 receptors in mediating the neuroprotective effects of this hormone was investigated and it was determined whether the non-genomic function of E2 and P4 in neuroprotection after TBI is mediated by the PI3K/Akt.

**Methods:** Ovariectomized rats were divided as follows : sham, TBI, E2, P4, E2-BSA and G1 and their solvent was injected after TBI, while ICI, G15, ICI + G15 and their solvent was injected prior to induction of TBI and injection of E2 and E2-BSA and the classic progesterone receptor antagonist (RU486) was also injected prior to induction of TBI and injection of P4. Brain water content (BWC) and Evans blue content (EBC) were measured 5 and 24 h after TBI, respectively. Intracranial pressure (ICP) and cerebral perfusion pressure (CPP) and neurological outcome (VCS) were measured before and at various times after TBI. Histopathologic outcome and PI3K/p-Akt expression were assessed via H&E staining and Western blotting 24 h after induction of TBI, respectively. Motor activity, anxiety-like behavior, and spatial memory were evaluated 3, 7, 14 and 21 days after injury.

**Findings:** RU486 eliminated the inhibitory effects of P4 on BWC and EBC after TBI. RU486 inhibited the decreasing effect of P4 on ICP as well as the increasing effect of P4 on CPP and VCS after TBI. P4 prevented a decrease in cerebral PI3K/ p-Akt expression. Motor activity,

cognitive function, and anxiety disorders lasted for 3 weeks after TBI, but P4 avoided these cognitive and behavioral abnormalities and RU486 countered some of these effects of P4. E2, E2-BSA and G1 avoided an increase in BWC and EB content after TBI and these effects were inhibited by ICI and G15. ICI and G15 also inhibited the beneficial effects of E2, E2-BSA and G1 on ICP as well as CPP and VCS after TBI. E2, E2-BSA and G1 avoided a decrease in cerebral PI3K/Akt expression. Co-administration of ICI and G15 inhibited the beneficial effects of E2-BSA, E2 and G1 on PI3K/p-Akt expression. E2, E2-BSA and G1 prevent cognitive deficits and behavioral abnormalities caused by TBI. On the other hand, the above parameters, ICI and G15 also reverse the effects of E2 and E2-BSA on days 3, 7, 14 and 21.

**Discussion and Conclusion:** Classic progesterone receptors have neuroprotective effects and avoid long-term cognitive and behavioral deficits after TBI. Findings also showed that E2, E2-BSA and G1 have beneficial effects on secondary damage after TBI. Moreover, the injections of G1 and E2 forms can prevent motor deficits, anxiety-like behavior, learning and long-term memory. Inhibiting the protective effects of E2 forms by blocking classical estrogen and GPER receptors is suggested by ICI and G15, respectively and both classical and non-classical estrogen receptors are involved in the neuroprotective effects of E2 and E2-BSA in TBI. PI3K/Akt pathway is involved for mediating the beneficial non-genomic effects of sex steroids on neuroprotective function after TBI.

**Keywords:** Estrogen, progesterone, neuroprotection, behavior, spatial memory, classical estrogen receptors, non-classical estrogen receptors, non-genomic pathway, PI3K/Akt signaling.



**KERMAN UNIVERSITY  
OF MEDICAL SCIENCES**

**Faculty of Medicine**

In partial fulfillment of the requirement for the Degree P.H.D

Title

**Evaluation of genomic and non-genomic pathways role and determination of  
receptor type in neuroprotective effect of female sex steroids after traumatic  
brain injury in female rats**

By:

**Ladan Amirkhosravi**

Supervisor:

**1-Mohammad Khaksari (Ph. D)**

Advisors:

**1-Nader Shahrokhi (Ph. D) | 2-Vahid Sheibani (Ph. D) | 3-Zahra Soltani(Ph.  
D)**

Thesis No : **(580)**

Date **(January, 2021)**

