DOR: 20.1001.1.23832614.1402.36.1.5.6
مقاله پژوهشی

بررسی عصاره گیاه زیرفون (*Tilia platyphyllos*) بر تخریب حافظه کاری القاء شده با اسکوپولامین در موش های بزرگ سفید آزمایشگاهی نر نژاد ویستار: مشارکت مکانیسم‌های آنتی اکسیدانی

سیاوش خیاط عمرانی[۱]، فرهاد ولی زادگان[۱]، باقر سیدعلیپور[۲]* و احسان نظیفی[۳]

[۱] ایران، بابلسر، دانشگاه مازندران، دانشکده علوم پایه، گروه علوم جانوری

[۲] ایران، بابلسر، دانشگاه مازندران، دانشکده علوم پایه، گروه زیست سلولی و مولکولی

[۳] ایران، بابلسر، دانشگاه مازندران، دانشکده علوم پایه، گروه علوم گیاهی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۰۳

چکیده

اسکوپولامین با ایجاد استرس اکسیداتیو در سلول‌های مغز، به ویژه کورتکس و هیپوکامپ، سبب ایجاد اختلال در حافظه می‌شود. گیاهان دارویی با ترکیبات موثر مختلف می توانند اثرات آنتی اکسیدانی داشته باشند. هدف این مطالعه تاثیر عصاره متانولی گیاه زیرفون بر استرس اکسیداتیو و اختلال حافظه کاری القاء شده با اسکوپولامین در موش های نژاد نر ویستار می‌باشد. در این مطالعه تجربی، ۳۶ موش نر ویستار به‌طور اتفاقی به ۶ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. گروه کنترل، گروه اسکوپولامین (۱ میلی گرم بر کیلوگرم)، گروه عصاره (۳۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و گروه های عصاره ۱۰۰، ۲۲۵ و ۳۰۰ به همراه اسکوپولامین که عصاره ها را به صورت گاواژ و اسکوپولامین را به صورت داخل صفاقی به مدت ۱۰ روز دریافت کردند. پس از آزمون رفتاری تست شناسایی شی جدید (Novel Object Recognition Test) ، نمونه برداری از بافت هیپوکمپ و کورتکس برای سنجش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT) ، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و استیل کولین استراز (AChE) انجام شد. نتایج ما نشان داد تزریق اسکوپولامین باعث کاهش شاخص تبعیض در NORT می‌شود. دوز ۳۰۰ عصاره دارای بالاترین تاثیر بود، به‌طوری که حتی در تجویز آن به همراه اسکوپولامین نیز کاهش معنی‌داری($p<0.001$) در تعداد خطاهای حافظه کاری ایجاد گردید. یافته های بیوشیمیایی در بافت‌های هیپوکامپ و کورتکس نشان داد که اسکوپولامین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی CAT و SOD را کاهش و فعالیت AChE را افزایش داد. تیمار با عصاره زیرفون سبب برگرداندن فعالیت آنزیم‌های SOD، CAT و AChE شد. نتایج حاصل از این پژوهش حاکی از آن است که عصاره زیرفون دارای اثر تقویت کنندگی بر حافظه کاری بوده و اثر خود را عموما از طریق فعالیت آنتی اکسیدانی اعمال می‌کند.

واژه های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، اسکوپولامین، حافظه کاری، زیرفون، کورتکس

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۱۱۳۵۳۰۲۴۰۵ ، پست الکترونیکی: b.seyedalipour@umz.ac.ir

مقدمه

حافظه توانایی ثبت، حفظ اطلاعات و بازیابی همان اطلاعات در صورت نیاز است در حالی که یادگیری فرآیندی است برای کسب اطلاعات جدید در مورد رویدادهایی که رخ داده است (۸) حافظه کاری، کارکردی شناختی است که مسئول حفظ اطلاعات آنی، دستکاری و استفاده از آنها در فرآیند تفکر، ادراک و استدلال می‌باشد (۳۵) قشر پیش‌پیشانی (PFC) به عنوان ساختاری شناخته شده است که به طور گسترده در فرآیندهای شناختی مثل

DOR: 20.1001.1.23832614.1402.36.1.5.6
مقاله پژوهشی

تفکر، استدلال، تصمیم‌گیری و برنامه‌ریزی نقش دارد(۳۸). جدیدترین مطالعات در زمینه‌ی تصویربرداری مغزی که با استفاده از پرتونگاری مقطعی با پرتو پوزیترون (PET) و تصویرسازی تشدید مغناطیسی کارکردی (fMRI)روی انسان انجام گرفته نشان دهنده‌ی افزایش جریان خون در قشر پیشانی در حین دوره‌ی تاخیری آزمون‌های مرتبط با حافظه‌ی کاری است (۲۱). شمار زیادی از نوروترانسمیترها برای عملکرد حافظه ضروری هستند. از جمله این نوروترانسمیترها می‌توان به استیل کولین، دوپامین و گلوتامات اشاره کرد (۲۲). انتقال عصبی دوپامین در قشر پیشانی برای حافظه‌ی کاری در انسان و جانوران اهمیت دارد. پژوهش انجام شده توسط برازوسکی برای نخستین بار نقش کاتکول آمین‌ها (دوپامین) را در حافظه‌ی کاری نشان داد. علاوه بر دوپامین، پژوهش‌های انجام شده روی میمون‌ها، رت‌ها و انسان نشان داد که سایر نوروترانسمیترهای تنظیم کننده بر حافظه‌ی کاری تاثیر می‌گذارند. برای مثال نوراپی نفرین از طریق آلفا-آدرنورسپتور و استیل کولین از طریق گیرنده‌های موسکارینی عمل می‌کنند (۵). طبق شواهد بدست آمده از مطالعات اخیر، داروهای آنتی‌کولینرژیک حافظه و یادگیری را در مدل‌های مختلف یادگیری تخریب می‌نمایند. به گونه‌ای که آگونیست رسپتورهای کولینرژیک و یا مهارکننده‌های استیل کولین استراز اثر مثبت و تقویت کننده‌ای برحافظه دارند، در حالیکه آنتاگونیست رسپتورهای کولینرژیک نظیر اسکوپولامین باعث اختلال در حافظه می‌شوند (۴۱). اسکوپولامین از نظر ساختاری شبیه به انتقال دهنده عصبی استیل کولین است و عملکرد خود را با مسدود کردن گیرنده‌های موسکارینی استیل کولین که منجر به اختلال عملکرد کولینرژیک و اختلال در یادگیری و حافظه می‌شود، انجام می‌دهد (۲۸). وقوع استرس اکسیداتیو در هیپو کامپ بعد از تیمار با مورفین مشاهده شد که با کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز همراه بود. نتایج حاصل نشان دهنده حساسیت مغز به استرس اکسیداتیو القا شده با مورفین، است (۱۹). ترکیبات طبیعی سرشار از آنتی اکسیدان ها ممکن است مهمترین عامل در پیشگیری از بیماری های ناشی از استرس اکسیداتیو باشند. در همین راستا حاجی زاده و همکاران نشان دادند تیمار عصاره سیانوباکتری فعالیت آنزیم های کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز قشر مغز را بطور معنی داری تغییر می دهد (۱۷).

بسیاری از مطالعات اخیر نشان داد که اختلال در حافظه مدل حیوانی ناشی از اسکوپولامین، با افزایش استرس اکسیداتیو در مغز و تغییر در آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مغز مرتبط است (۱۱). تولید بیش از حد ترکیبات اکسیدکننده همچون گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و یا عدم کارایی مکانیسم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی سبب آسیب بافتی می‌شود (۳۳). در شرایط طبیعی، اغلب بین تولید رادیکال‌های آزاد از یک سو و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی از سوی دیگر حالت تعادل وجود دارد (۳۹). یکی از مکانیسم‌هایی که ممکن است در بهبود اختلال حافظه ناشی از اسکوپولامین توسط ترکیبات فلاونوئیدی موثر باشد، بهبود عملکرد سیستم کولینرژیک و مهار آنزیم استیل کولین استراز، توسط این ترکیبات می‌باشد (۳۴). گیاه زیرفون (*Tilia platyphyllos*) متعلق به خانواده Tiliaceae است، که از چندین گونه تشکیل شده است، که در اروپا، آمریکای شمالی و آسیا توزیع شده است (۱۶). گیاه زیرفون یک درخت برگ‌ریز بزرگ است. در ایران بیشتر در سفیدرود گیلان، کجور، مینودشت، جنگل گلستان، جنگل‌های کوهستانی تنکابن و همین‌طور بلوچستان و بندرعباس پراکندگی دارند (۴۰). نام اروپایی آنLime tree و Linden treeو نام ایرانی آن زیرفون می باشد (۳۶). از مواد مؤثره این گیاه می‌توان به فلاونوئیدهای مختلف مانند تیلیروزید، کوئرستین، ایزوکوئرستین، هایپروسید، روتنون، کاتچین و آمینواسیدهای مختلف شامل آلانین و سیستئین اشاره کرد (۴). فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضدتوموری در

DOR: 20.1001.1.23832614.1402.36.1.5.6
مقاله پژوهشی

گیاهانی از جمله زیرفون دیده می‌شود (۶). گل و برگ زیرفون به دلیل داشتن مواد موثره از جمله فلاونوئیدها به‌عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی عمل می‌کنند (۷). با توجه به نقش آنتی‌اکسیدانی گیاه زیرفون، در این تحقیق بر آن شدیم تا اثر عصاره گیاه زیرفون بر تخریب حافظه کاری و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و استیل کولین استراز در کورتکس و هیپوکمپ القاء شده با اسکوپولامین در موش های بزرگ آزمایشگاهی نر بپردازیم.

مواد و روشها

طراحی آزمایش: این پژوهش در آزمایشگاه فیزیولوژی جانوری گروه زیست شناسی دانشگاه مازندران انجام شد. دراین مطالعه تجربی ۳۶ سر موش بزرگ آزمایشگاهی نر در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم و محدوده سنی ۱۴-۱۲ هفته از مرکز حیوانات دانشگاه علوم پزشکی بابل خریداری شد و در اتاق حیوانات دانشکده زیست شناسی در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد نگه‌داری شدند و آب و غذای مخصوص حیوانات به میزان کافی در دسترس آنها قرارگرفت. آزمایشات یک هفته بعد از انتقال موش‌ها به آزمایشگاه به منظور سازگاری با محیط آزمایشگاه انجام گرفت. کلیه آزمایشات مطابق آیین نامه اخلاقی کمیته اخلاق زیستی دانشگاه مازندران و با کد اخلاق زیستی (IR.UMZ.REC.1400.041) انجام شد.

در این تحقیق حیوانات مورد آزمایش به ۶ گروه ۶ تایی به این شرح تقسیم شدند: ۱- گروه کنترل، که سالین را بصورت درون صفاقی و به صورت گاواژ دریافت کردند. ۲- گروه عصاره ۳۰۰، که غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه زیرفون را به صورت گاواژ دریافت کردند و سالین را بصورت درون صفاقی دریافت کردند (۱۹). ۳- گروه اسکوپولامین (بیمار)، که اسکوپولامین با غلظت یک میلی‌گرم بر کیلوگرم را بصورت درون صفاقی و سالین را بصورت گاواژ دریافت کردند (۳۰). ۴- گروه عصاره ۱۵۰ به‌علاوه اسکوپولامین که اسکوپولامین را بصورت درون صفاقی و عصاره گیاه زیرفون (۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت گاواژ دریافت کردند. ۵-گروه عصاره ۲۲۵ به‌علاوه اسکوپولامین که اسکوپولامین را بصورت درون صفاقی و عصاره گیاه زیرفون (۲۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت گاواژ دریافت کردند. ۶- گروه عصاره ۳۰۰ به‌علاوه اسکوپولامین که اسکوپولامین را بصورت درون صفاقی و عصاره گیاه زیرفون (۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت گاواژ دریافت کردند. تمام تیمارها به مدت ۱۰ روز و در ساعت ۸ الی ۱۰ صبح انجام شدند. آخرین گاواژ برای هر حیوان ۲۴ ساعت قبل از کالبدشکافی آنها بود. تمامی حیوانات مورد آزمایش به جز گروه کنترل، طی یک بازه زمانی ۱۰ روزه، حلال ها و ترکیباتی که برای تیمار استفاده شدند را به صورت روزانه دریافت کردند. بعد از انجام تست رفتاری در روز یازدهم، بافت هیپوکامپ و کورتکس از بافت مغزی جدا و در نیتروژن مایع قرار داده شد و برای سنجش آنزیمی مورد استفاده قرار گرفت.

عصاره گیری: در این تحقیق، گل‌ها و برگ‌های درخت زیرفون (نمدار) در اوایل تیر ماه سال ۱۳۹۸ (از شهرستان تنکابن، استان مازندران، ایران) جمع‌آوری شد. گل‌ها و برگ‌ها در شرایط سایه خشک و با آسیاب الکتریکی پودر شدند. سپس ۱۰۰ گرم از پودر گیاه با ۵۰۰ میلی‌لیتر متانول به مدت ۲۴ ساعت روی دستگاه شیکر با سرعت ۱۰۰ دور بر دقیقه قرار گرفت. بعد از گذشت این زمان، عصاره حاصل به‌وسیله کاغذ صافی و قیف بوخنر طی دو مرحله صاف گردید و با استفاده از دستگاه تبخیرکننده چرخشی (LABFREEZ, RE-5PRO, TIWAN) در دمای ۳۹ درجه سانتیگراد و تحت فشار خلا پایین تغلیظ شد. در نهایت عصاره تغلیظ شده با قرار دادن در دستگاه آون با دمای ۳۹ درجه سانتیگراد خشک گردید. پودر خشک عصاره توزین و توسط نرمال سالین برای به دست آوردن غلظت‌های مختلف حل گردید.

DOR: 20.1001.1.23832614.1402.36.1.5.6

تست رفتاری

تست شناسایی شئ جدید (Novel Object Recognition Test) : تست شناسایی شئ جدید یک آزمون رفتاری است که به بررسی جنبه‌های مختلف یادگیری و حافظه در موش‌ها می‌پردازد. این آزمون در سه روز کامل می‌شود:

روز عادت در این دوره موش در محیط قرار گرفته و آن را شناسایی می‌کند.

روز تمرین در این روز که ۲۴ ساعت بعد از روز عادت است، حیوان در محیط قبلی با دو شئ جدید هم شکل قرار می‌گیرد.

روز آزمون موش در محیط قبلی با دو شئ، یکی آشنا و دیگری جدید قرار می‌گیرد.

محیط این آزمون، محیطی هندسی (مربعی شکل) با ابعاد ۴۰×۶۰×۶۰ سانتی‌متر و بدون هیچ شئ می‌باشد. در طول دوره تمرین موش‌ها اجازه دارند دو شئ را شناسایی کنند. جهت بررسی دقیق رفتارهای حیوان در طول مدت آزمایش، دوربینی دیجیتالی در بالای محفظه تعبیه شد. در روز آزمون، یکی از اشیاء دوره تمرین با یک شئ جدید جایگزین می‌شود. موش‌ها معمولا گرایش به شئ جدید دارند و اگر موش شئ آشنا را شناسایی کند، بیشتر زمانش را برای شناسایی شئ جدید صرف خواهد کرد. مداخلات درمانی می‌تواند قبل و بعد از تمرین یا پیش از به یاد آوردن آن چه یاد گرفته شده است، استفاده شود. پس از هر آزمایش، کف محیط آزمایش با الکل تمیز شد. به طور کلی می‌توان اشاره کرد که آزمون Novel Object یک آزمون کم استرس و کارآمد برای ارزیابی حافظه، تغییرات روان‌شناختی – عصبی به دنبال اعمال مداخلات زیستی و ژنتیکی در حیوان می‌باشد. همچنین، این آزمون به منظور ارزیابی شناختی به خصوص بازیابی حافظه کاری در مدل‌های حیوانی موش دارای اختلالات سیستم عصبی مرکزی مورد استفاده قرار می گیرد. برای سنجش شاخص شناسایی از فرمول زیر استفاده شد (۲۴).

$$\text{شاخص شناسایی} = \frac{\text{زمان لمس شی جدید}}{\text{زمان لمس شئ جدید + زمان لمس شی قدیم}} \times 100$$

معادله محاسبه‌ی شاخص شناسایی

تهیه، جدا سازی و هموژن سازی بافت: پس از پایان آخرین تست های رفتاری، به منظور تعیین سنجش فعالیت آنزیم های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز و استیل کولین استراز، موش های بزرگ سفید آزمایشگاهی نر نژاد ویستار با استفاده از کلروفرم بیهوش و ناحیه هیپوکامپ و کورتکس مغز جدا سازی شد. جهت هموژن‌سازی هر یک از بافت‌ها (کورتکس و هیپوکمپ) از نیتروژن مایع استفاده شد. ابتدا بافت مورد نظر را در تانک نیتروژن مایع قرار داده، سپس بافت را از تانک خارج کرده و به هاون چینی انتقال داده، با فاصله زمانی چندین بار ازت مایع روی بافت ریخته تا بافت سفت و شکننده باقی بماند. همزمان بافت را کوبیده، به طوریکه بافت کاملا خرد و پودری شکل شود. سپس بعد از تعیین وزن بافت هموژن شده آن را به لوله فالکون انتقال داده و به ازای هر گرم از بافت ۱۰ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۱۰۰ مولار با pH= 7/4 اضافه شد. سپس با سرعت ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. در نهایت مایع شفاف رویی برای سنجش فعالیت آنزیم‌های مورد نظر جداسازی گردید و تا زمان انجام آزمایش نمونه ها در فریزر ۲۰- نگهداری شد.

تست های بیوشیمیایی

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز در بافت کورتکس و هیپوکامپ: اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز به روش (Aebi) با استفاده از سوبسترای پراکسید هیدروژن انجام شد. واکنش در کوت ۳ میلی‌لیتری انجام گرفت. حجم مخلوط واکنش شامل ۹۸۰ میکرولیتر محلول ۳۰ میلی‌مولار آب اکسیژنه و ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۵۰

DOR: 20.1001.1.23832614.1402.36.1.5.6

میلی‌مولار با (pH 7) و ۲۰ میکرولیتر از نمونه آنزیم (سوپر ناتنت) بود. واکنش با افزودن سوبسترا شروع و تغییرات جذب در طول مدت ۲ دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از ضریب خاموشی ($39.4\ M^{-1}CM^{-1}$) براساس قانون بیرلامبرت ($A=\varepsilon dc$) محاسبه و به صورت واحد بر گرم بافت (U/g tissue) گزارش شد. بر طبق تعریف، یک واحد کاتالاز مقدار آنزیمی است که موجب تجزیه یک میکرومول H_2O_2 در مدت یک دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد شود (۱).

سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در بافت کورتکس و هیپوکامپ : برای سنجش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز از روش اتواکسیداسیون پیروگالل استفاده شد. بدین منظور از بافر تریس–هیدروکلرید ۵۰ میلی‌مولار (pH 8.2) و EDTA یک میلی مولار و پیروگالول۰/۰۲میلی‌مولار استفاده گردید. حجم ۲۹۰۰ میلی‌لیتر از بافر تریس– هیدروکلرید حاوی EDTA با ۵۰ میکرولیتر سوپرناتنت مخلوط و سپس ۵۰ میکرولیتر محلول پیروگالل به محلول فوق اضافه شد و سریعا جذب در ۵ دقیقه با فاصله ۳۰ ثانیه‌ای در طول موج ۴۲۰ نانومتر خوانده شد. برای اندازه‌گیری شاهد از اتواکسیداسیون پیروگالل به تنهایی استفاده شد و به جای آنزیم ۵۰ میکرولیتر بافر اضافه گردید و جذب در طول موج ۴۲۰ نانومتر خوانده شد و با استفاده از اعداد بدست آمده درصد فعالیت آنزیم محاسبه شد. میزان فعالیت به صورت درصد مهارکنندگی آنزیم بیان شد (۲۵).

$$\text{درصد مهار پیروگالول} = (dA/dt_{blank} - dA/dt_{sample})/dA/dt_{blank}$$

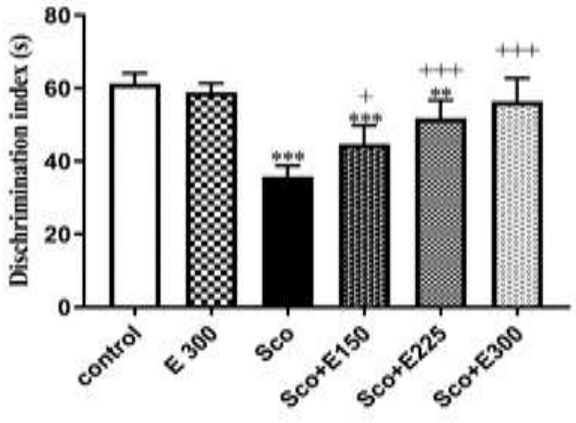
سنجش فعالیت آنزیم استیل کولین استراز در بافت‌های کورتکس و هیپوکمپ: اساس این روش اندازه‌گیری سرعت تولید تیوکولین به عنوان محصول کاتالیز آنزیمی با استفاده از سوبسترای استیل تیوکولین می‌باشد. حجم ۱۰ میکرولیتر از نمونه آنزیم، ۲۹۵۰ میکرولیتر از بافر سدیم فسفات ۵۰ میلی مولار (pH 7.5) به همراه ۲۰ میکرولیتر از معرف ۱۰ میلی‌مولار DTNB و در نهایت با ۲۰ میکرولیتر استیل تیوکولین یداید با غلظت ۷۵ میلی‌مولار مخلوط گردید. پس از افزودن سوبسترا، سرعت تولید تیوکولین با پیگیری واکنش آن با DTNB و تولید آنیون زردرنگ۲ – نیترو –۵– مرکاپتو بنزوئیک اسید در طول موج ۴۱۲ نانومتر اندازه‌گیری شد. تغییرات جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر به مدت ۵ دقیقه و هر ۳۰ ثانیه یکبار خوانده و ثبت شد. روش سنجش نمونه شاهد نیز همانند نمونه دارای آنزیم است. تنها تفاوت اینکه نمونه شاهد فاقد آنزیم بوده و به جای آنزیم از بافر استفاده شد. فعالیت آنزیم بر اساس میکرومول بر دقیقه در هر گرم بافت (µmol/min/g) گزارش شد (۱۲).

آنالیز آماری و تحلیل داده ها: پس از جمع‌آوری داده‌ها تجزیه و تحلیل با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۱انجام شد. برای بررسی وجود اختلاف بین گروه ها، از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و به دنبال آن از آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش و اختلاف بین گروه‌ها با $p<0.05$ معنی‌دار تلقی شده است. برای آنالیز رفتاری و رسم نمودارها از نرم افزار PRISM و Excel استفاده گردید.

نتایج

اثر عصاره زیرفون بر اختلالات حافظه کاری القا شده با اسکوپولامین در تست شناسایی شئ جدید: شاخص شناسایی شئ جدید (شاخص تبعیض) در گروه بیمار کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان داد ($P<0.001$). گروه‌های اسکوپولامین تیمار شده با عصاره زیرفون در غلظت ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در سطح ($P<0.05$) و در غلظت‌های ۲۲۵ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در سطح ($P<0.001$) افزایش معنی‌داری را نسبت به بیمار نشان دادند (شکل ۱).

DOR: 20.1001.1.23832614.1402.36.1.5.6
مقاله پژوهشی



شکل ۱- اثر تیمار عصاره گیاه زیرفون بر اختلالات حافظه القاء شده با اسکوپولامین در آزمون شناسایی شئ جدید

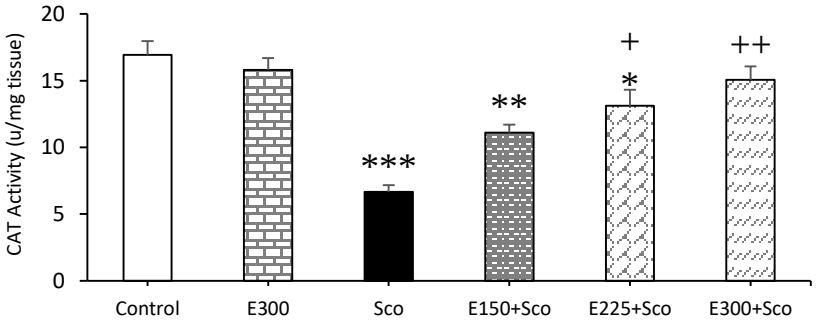
گروه سالین + سالین (Control)، گروه عصاره ۳۰۰ mg/kg + سالین (E300)، گروه اسکوپولامین + سالین (Sco)، گروه اسکوپولامین + عصاره 150 mg/kg(Sco+E150)، گروه اسکوپولامین + عصاره 225 mg/kg (Sco+E225)، گروه اسکوپولامین + عصاره 300 mg/kg (Sco+E300).

جهت آنالیز داده ها از آنالیز واریانس یک طرفه (آنوا) و برای مقایسه میانگین ها از تست تعقیبی توکی استفاده شد.

$p<0.01$ **، $p<0.001$ *** در مقایسه با گروه کنترل

$p<0.05$ +، $p<0.001$ +++ در مقایسه با گروه اسکوپولامین (بیمار)

اثر عصاره زیرفون بر فعالیت آنزیم کاتالاز در هیپوکمپ موش های بزرگ آزمایشگاهی القاء شده با اسکوپولامین: فعالیت آنزیم کاتالاز در هیپوکمپ گروه اسکوپولامین (بیمار) کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل نشان داد ($p<0.001$). فعالیت آنزیم کاتالاز در بافت هیپوکمپ گروه‌های اسکوپولامین تیمار شده با عصاره زیرفون در غلظت ۲۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در سطح ($p<0.05$) و در غلظت‌های ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در سطح ($p<0.01$) افزایش معنی‌داری را نسبت به بیمار نشان داد (شکل ۲).



شکل ۲- اثر تیمار عصاره گیاه زیرفون بر فعالیت آنزیم کاتالاز در هیپوکامپ موش های بزرگ آزمایشگاهی القاء شده با اسکوپولامین

گروه سالین + سالین (Control)، گروه عصاره ۳۰۰ mg/kg + سالین (E300)، گروه اسکوپولامین + سالین (Sco)، گروه اسکوپولامین + عصاره 150 mg/kg(Sco+E150)، گروه اسکوپولامین + عصاره 225 mg/kg (Sco+E225)، گروه اسکوپولامین + عصاره 300 mg/kg (Sco+E300).

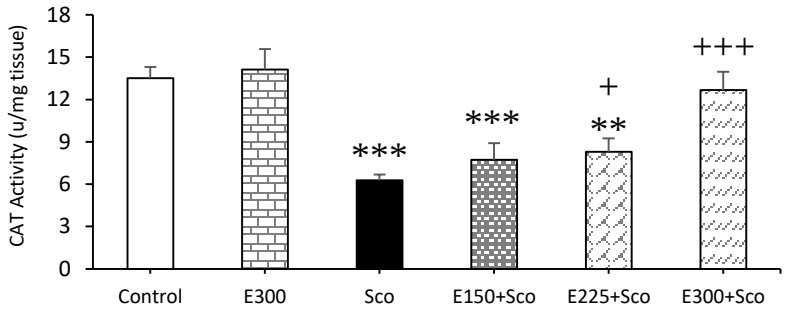
جهت آنالیز داده ها از آنالیز واریانس یک طرفه (آنوا) و برای مقایسه میانگین ها از تست تعقیبی توکی استفاده شد.

$p<0.05$ *، $p<0.01$ **، $p<0.001$ *** در مقایسه با گروه کنترل

$p<0.05$ +، $p<0.01$ ++ در مقایسه با گروه اسکوپولامین (بیمار)

DOR: 20.1001.1.23832614.1402.36.1.5.6
مقاله پژوهشی

اثر عصاره زیرفون بر فعالیت آنزیم کاتالاز در کورتکس موش های بزرگ آزمایشگاهی القاء شده با اسکوپولامین: فعالیت آنزیم کاتالاز در کورتکس گروه اسکوپولامین (بیمار) کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل نشان داد ($p<0.001$). فعالیت آنزیم کاتالاز در بافت کورتکس گروه‌های اسکوپولامین تیمار شده با عصاره زیرفون در غلظت ۲۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در سطح ($p<0.05$) و در غلظت‌های ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در سطح ($p<0.001$) افزایش معنی‌داری را نسبت به بیمار نشان داد (شکل ۳).



شکل ۳- اثر تیمار عصاره گیاه زیرفون بر فعالیت آنزیم کاتالاز در کورتکس موش های بزرگ آزمایشگاهی القاء شده با اسکوپولامین

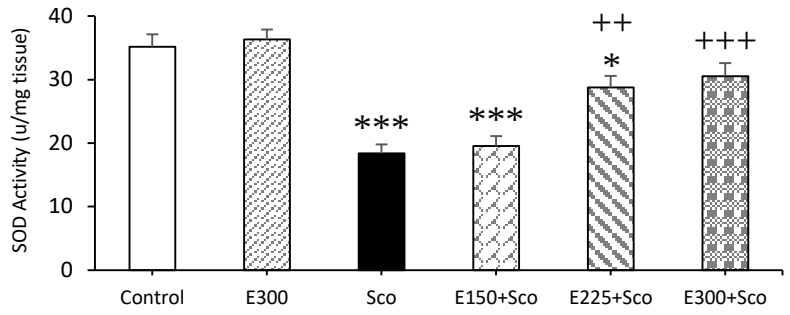
گروه سالین + سالین (Control)، گروه عصاره ۳۰۰ mg/kg + سالین (E300)، گروه اسکوپولامین + سالین (Sco)، گروه اسکوپولامین + عصاره 150 mg/kg(Sco+E150)، گروه اسکوپولامین + عصاره 225 mg/kg (Sco+E225)، گروه اسکوپولامین + عصاره 300 mg/kg (Sco+E300).
جهت آنالیز داده ها از آنالیز واریانس یک طرفه (آنوا) و برای مقایسه میانگین ها از تست تعقیبی توکی استفاده شد.
$p<0.01$ **، $p<0.001$ *** در مقایسه با گروه کنترل
$p<0.05$ +، $p<0.001$ +++ در مقایسه با گروه اسکوپولامین (بیمار)

اثر عصاره زیرفون بر فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) در هیپوکمپ موش های بزرگ آزمایشگاهی القاء شده با اسکوپولامین: فعالیت آنزیم SOD در هیپوکمپ گروه اسکوپولامین (بیمار) در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری نشان داد ($P<0.001$). فعالیت آنزیم SOD در بافت هیپوکمپ گروه‌های اسکوپولامین تیمار شده با عصاره زیرفون در غلظت ۲۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در سطح ($p<0.01$) و در غلظت‌های ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در سطح ($p<0.001$) افزایش معنی‌داری را نسبت به بیمار نشان داد (شکل ۴).

اثر عصاره زیرفون بر فعالیت آنزیم SOD در کورتکس موش های بزرگ آزمایشگاهی القاء شده با اسکوپولامین: فعالیت آنزیم SOD در کورتکس گروه اسکوپولامین (بیمار) در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری نشان داد ($P<0.001$). فعالیت آنزیم SOD در بافت هیپوکمپ گروه‌های اسکوپولامین تیمار شده با عصاره زیرفون در غلظت ۲۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در سطح ($p<0.05$) و در غلظت‌های ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در سطح ($p<0.01$) افزایش معنی‌داری را نسبت به بیمار نشان داد (شکل ۵).

اثر عصاره زیرفون بر فعالیت آنزیم استیل کولین استراز (AChE) در هیپوکمپ موش های بزرگ آزمایشگاهی القاء شده با اسکوپولامین: فعالیت آنزیم AChE در هیپوکمپ گروه اسکوپولامین (بیمار) در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی داری نشان داد ($P<0.01$). تیمار گروه اسکوپولامین با غلظت‌های مختلف عصاره زیرفون، تنها در غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش معنی‌داری در مقایسه با گروه بیمار ($P<0.01$) مشاهده شد (شکل ۶).

DOR: 20.1001.1.23832614.1402.36.1.5.6
مقاله پژوهشی



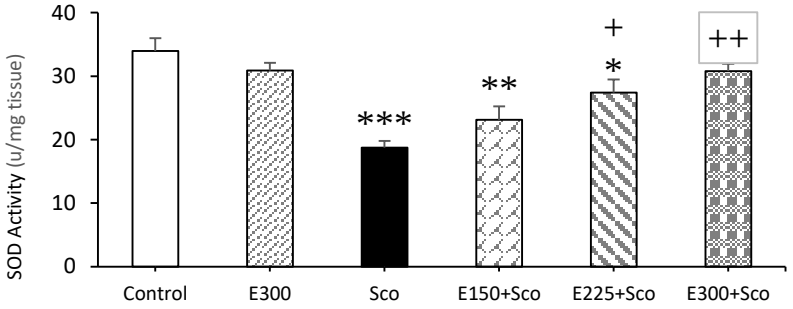
شکل ۴- اثر تیمار عصاره گیاه زیرفون بر فعالیت آنزیم SOD در هیپوکامپ موش های بزرگ آزمایشگاهی القاء شده با اسکوپولامین

گروه سالین + سالین (Control)، گروه عصاره ۳۰۰ mg/kg + سالین (E300)، گروه اسکوپولامین + سالین (Sco)، گروه اسکوپولامین + عصاره 150 mg/kg(Sco+E150)، گروه اسکوپولامین + عصاره 225 mg/kg (Sco+E225)، گروه اسکوپولامین + عصاره 300 mg/kg (Sco+E300).

جهت آنالیز داده ها از آنالیز واریانس یک طرفه (آنوا) و برای مقایسه میانگین ها از تست تعقیبی توکی استفاده شد.

$p<0.05$ *، $p<0.001$ *** در مقایسه با گروه کنترل

$p<0.01$ ++، $p<0.001$ +++ در مقایسه با گروه اسکوپولامین (بیمار)

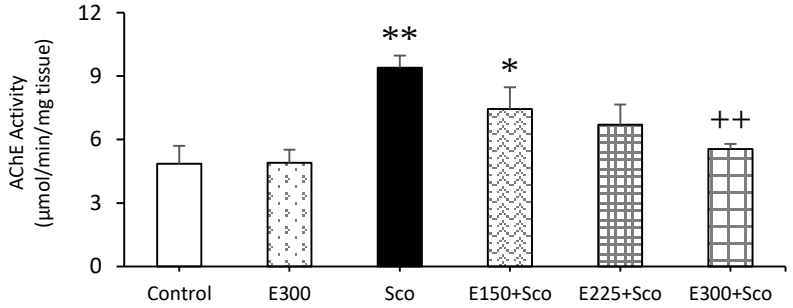


شکل ۵- اثر تیمار عصاره گیاه زیرفون بر فعالیت آنزیم SOD در کورتکس موش های بزرگ آزمایشگاهی القاء شده با اسکوپولامین

گروه سالین + سالین (Control)، گروه عصاره ۳۰۰ mg/kg + سالین (E300)، گروه اسکوپولامین + سالین (Sco)، گروه اسکوپولامین + عصاره 150 mg/kg(Sco+E150)، گروه اسکوپولامین + عصاره 225 mg/kg (Sco+E225)، گروه اسکوپولامین + عصاره 300 mg/kg (Sco+E300).

جهت آنالیز داده ها از آنالیز واریانس یک طرفه (آنوا) و برای مقایسه میانگین ها از تست تعقیبی توکی استفاده شد.

$p<0.05$ *، $p<0.01$ **، $p<0.001$ *** در مقایسه با گروه کنترل $p<0.05$ +، $p<0.01$ ++ در مقایسه با گروه اسکوپولامین(بیمار)



شکل۶- اثر تیمار عصاره گیاه زیرفون بر فعالیت آنزیم AChE در هیپوکمپ موش های بزرگ آزمایشگاهی القاء شده با اسکوپولامین

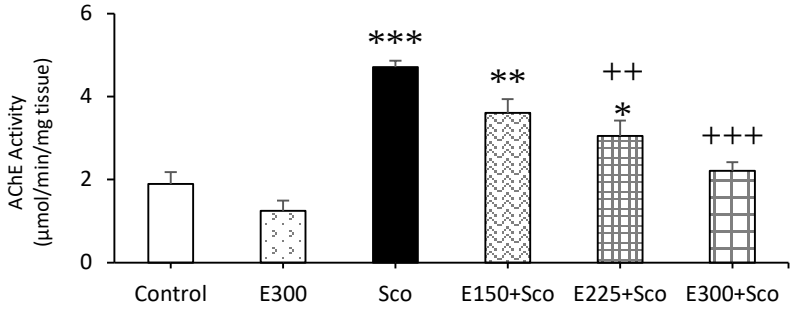
گروه سالین + سالین (Control)، گروه عصاره ۳۰۰ mg/kg + سالین (E300)، گروه اسکوپولامین + سالین (Sco)، گروه اسکوپولامین + عصاره 150 mg/kg(Sco+E150)، گروه اسکوپولامین + عصاره 225 mg/kg (Sco+E225)، گروه اسکوپولامین + عصاره 300 mg/kg (Sco+E300).

جهت آنالیز داده ها از آنالیز واریانس یک طرفه (آنوا) و برای مقایسه میانگین ها از تست تعقیبی توکی استفاده شد.

$p<0.05$ *، $p<0.01$ ** در مقایسه با گروه کنترل $p<0.01$ ++ در مقایسه با گروه اسکوپولامین(بیمار)

DOR: 20.1001.1.23832614.1402.36.1.5.6
مقاله پژوهشی

اثر عصاره زیرفون بر فعالیت آنزیم AChE در کورتکس موش های بزرگ آزمایشگاهی القاء شده با اسکوپولامین: فعالیت آنزیم AChE در کورتکس گروه اسکوپولامین(بیمار) تیمار شده با عصاره زیرفون در غلظت ۲۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش معنی‌داری نسبت به گروه بیمار ($P<0.01$) نشان داد در حالی که همچنان افزایش معنی‌داری ($P<0.05$) نسبت به گروه کنترل داشت. گروه بیمار تیمار شده با عصاره زیرفون با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با گروه بیمار کاهش معنی داری در فعالیت آنزیم AChE کورتکس ($P<0.001$) نشان داد (شکل ۷).



شکل ۷. اثر تیمار عصاره گیاه زیرفون بر فعالیت آنزیم AChE در کورتکس موش های بزرگ آزمایشگاهی القاء شده با اسکوپولامین گروه سالین + سالین (Control)، گروه عصاره ۳۰۰ mg/kg + سالین (E300)، گروه اسکوپولامین + سالین (Sco)، گروه اسکوپولامین + عصاره 150 mg/kg(Sco+E150)، گروه اسکوپولامین + عصاره 225 mg/kg (Sco+E225)، گروه اسکوپولامین + عصاره 300 mg/kg (Sco+E300).
جهت آنالیز داده ها از آنالیز واریانس یک طرفه (آنوا) و برای مقایسه میانگین ها از تست تعقیبی توکی استفاده شد.
$p<0.05$ *، $p<0.01$ **، $p<0.001$ *** در مقایسه با گروه کنترل
$p<0.01$ ++، $p<0.001$ +++ در مقایسه با گروه اسکوپولامین(بیمار)

بحث و نتیجه گیری

یادگیری یک پدیده عصبی است که طی آن موجودات زنده از طریق تمرین، رفتار خود را تغییر می دهند، در حالی که حافظه به روند ذخیره سازی آموخته‌ها اطلاق می‌شود (۲۶). از این رو یادگیری و حافظه از عالی ترین سطوح عملکردی سیستم عصبی مرکزی محسوب می شوند (۱۳). علی رغم آنکه از دیرباز مطالعات و تحقیقات وسیعی بر روی حافظه صورت گرفته است، ولی از آنجایی که حافظه انواع بسیار گوناگونی دارد و مکانیسم های آن بخوبی شناخته نشده است، بنابراین همچنان جز مسائل مهم و مورد بحث و پژوهش است (۳۷) . حافظه کاری مسئول پردازش و دست کاری اطلاعات در پروسه های شناختی بالاتر است. نشان داده شده که حافظه کاری در شمار گسترده ای از پروسه های شناختی مثل برنامه ریزی، حل مسئله و تمرین در مدرسه، خواندن و درک مفاهیم ریاضی، هوش نقش دارد (۳). مطالعات بالینی قویا نقش کورتکس پیش پیشانی (PFC) را به عنوان مرکز اصلی پردازش فرایند های مرتبط با حافظه کاری تایید می کنند. آدرین اون و همکارانش نشان دادند در بیمارانی که کورتکس پیش پیشانی آن ها آسیب دیده، اثرات اختلال در حافظه کاری را در تست برج لندن از خود نشان داده اند (۲۹). مطالعات واکین فوستر در قشر پیش پیشانی نشان دادکه در PFC چندین سیستم انتقال دهنده عصبی، به ویژه سیستم های دوپامینرژیک و کولینرژیک ارائه شده است (۱۸). لیان رابینسون و همکارانش در سال ۲۰۱۱ نقش سیستم کولینرژیک بخصوص گیرنده های موسکارینی را در حافظه ادراکی، حافظه کاری و یادگیری تایید کردند

DOR: 20.1001.1.23832614.1402.36.1.5.6
مقاله پژوهشی

(۳۰). نشان داده شده است که آگونیست های سیستم کولینرژیک باعث تقویت یادگیری و حافظه می شوند ولی آنتاگونیست های آن باعث تخریب حافظه می شوند (۹).

اسکوپولامین یک آنتاگونیست کولینرژیک است که در انتقال استیل کولین در سیستم عصبی مرکزی اختلال ایجاد می‌کند (۳۲). در پژوهش حاضر، از اسکوپولامین به منظور تخریب حافظه کاری در موش های بزرگ آزمایشگاهی نر استفاده شده است. در این پژوهش ۱۰ روز پس از تزریق اسکوپولامین جهت ارزیابی عملکرد حافظه کاری و یادگیری موش ها از آزمون شناسایی شی جدید استفاده گردید. در نتایج بدست آمده از این آزمون مشاهده شد شاخص تبعیض در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل کاهش یافته است که به خوبی اختلالات حافظه کاری را در موش های تیمار شده با اسکوپولامین را نشان می دهد. در همین راستا دودچنکو و همکارانش در سال ۲۰۰۴ به منظور بررسی وظایف مرتبط با حافظه کاری در جوندگان از تست رفتاری شی جدید استفاده کردند (۱۰) . در مطالعه ی کوبایاشی و همکارانش در سال ۲۰۱۳ از آزمون شناسایی شی جدید برای سنجش حافظه کاری و یادگیری موش ها، استفاده شد. نتایج کار آنها نشان داد که شاخص تبعیض بعد از القای گابا در موشها کاهش می‌یابد که نشان دهنده اختلال حافظه کاری در آنها می‌باشد (۲۳). آنالیزهای بیوشیمیایی در مطالعه حاضر نشان می‌دهند که اسکوپولامین باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز و ایجاد استرس اکسیداتیو در بافت‌های هیپوکامپ و کورتکس مغز موش‌های گروه دریافت کننده شده است. نتایج حاصل از پژوهش فان وهمکارانش در سال ۲۰۰۵ با بررسی تأثیر زنجیره قند الیگوساکارید اسیدی بر اختلال حافظه ناشی از اسکوپولامین در موش بزرگ آزمایشگاهی اینطور نشان می دهد که، اسکوپولامین در موش‌های دریافت کننده آن موجب اختلال در حافظه، کاهش فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی (سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز) و افزایش سطح مالون دی آلدئید در ناحیه هیپوکامپ شده است (۱۵). ساکورای و همکارنش در سال ۱۹۹۸ بر پایه ایجاد حالت استرس اکسیداتیو از اسکوپولامین(دوز mg/kg ۱) استفاده کردند. نتایج حاصل از کار آنها نشان داد اسکوپولامین به طور قابل توجهی سطوح استیل کولین استراز (AChE) و مالون دی آلدئید (MDA) را در قشر و هیپوکامپ افزایش می دهد، همچنین سطح آنزیم های آنتی اکسیدانی همانند SOD و گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) در اثر تجویز اسکوپولامین کاهش می یابد (۳۱). در این پژوهش به بررسی اثرات آنتی اکسیدانی عصاره گیاه زیرفون بر تخریب حافظه کاری القا شده با اسکوپولامین در موش های بزرگ آزمایشگاهی نر برای اولین بارپرداخته شده است.

ماتسودا و همکارانش در سال ۲۰۰۲ در بررسی اثر محافظ کبدی ، عصاره گیاه زیرفون (در دوز های۲۵ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) نشان دادن که ترکیبات مختلفی از جمله آلانین، آلفاپینن، اوژنول، موسیلاژ، اسیدفنولیک، پروآنتوسیانیدین، ترکیبات فنولی، الکل‌های آروماتیک، آمینواسیدهایی مانند تیروزین و گلایسین، ترپینئول، توکوفرول در آن وجود دارد. با جداسازی هدایت شده با سنجش زیستی، شش گلیکوزید فلاونول مانند تیلروزوئید را از عصاره متانولی آن جدا کردند که خواص آنتی اکسیدانی بالایی را در برابر استرس اکسیداتیو نشان دادند (۲۷). نتایج حاصل از درمان توسط عصاره ی زیرفون نشان داد، فلاونوئیدها مانندکورستین، ایزوکورستین، کاتچین و روتین و اسید های فنولیک مانند پروتوکاتکوئیک اسید و اپی کاتچین موجود در عصاره اتانولی گیاه زیرفون مانع از کاهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در کورتکس و هیپوکامپ مغز موش می شود. همچنین، در روند افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در موشهای تیمار شده با زیرفون، دوز ۳۰۰ اثرات افزایشی بهتری را نسبت به دوزهای ۱۵۰ و ۲۲۵ ازخود نشان می دهد.

DOR: 20.1001.1.23832614.1402.36.1.5.6
مقاله پژوهشی

بررسی های همتی و همکارانش در سال ۲۰۲۰ اثرات درمانی عصاره زیرفون (در دوزهای ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم برکیلوگرم) را بر آسیب بافت بیضه القا شده توسط کلرید کادمیوم در موشهای صحرایی نر بالغ نژاد ویستار نشان داده است. تیمار با عصاره اتانولی گیاه زیرفون با دوز ۴۰۰ آثار ناشی از سمیت کلرید کادمیوم ایجاد شده در بافت بیضه را به میزان قابل توجهی کاهش می دهد. آنتی اکسیدان‌های موجود در عصاره گیاه زیرفون با اثر محافظتی خود سطح رادیکال‌های آزاد ناشی از کادمیوم را در بافت بیضه کاهش داد (۲۰). همانطور که می‌دانید، سیستم کولینرژیک نقش مهمی را در یادگیری و حافظه ایفا می‌کند. بررسی‌ها نشان داده‌اند که اختلالات حافظه‌ای که با سیستم کولینرژیک مغز در ارتباط هستند مانند اختلالات حافظه ناشی از مصرف داروی اسکوپولامین، را می‌توان از طریق افزایش غلظت استیل‌کولین در شکاف سیناپسی، درمان نمود. این عمل را می توان با استفاده از مهار کننده های استیل‌کولین استراز (AChE) که از هیدرولیز استیل-کولین جلوگیری می‌کنند، انجام داد (۲). ترکیبات عصاره گیاه ختمی دارای خاصیت ضد التهابی، آنتی اکسیدانی و خاصیت مهار کنندگی آنزیم استیل کولین استراز می باشد و مطالعات نشان داد این ترکیبات سبب بهبود اختلالات حافظه اجتنابی درهیپو کامپ موش صحرایی نر نژاد ویستار می شوند (۱۴). در مطالعه‌ی پیش رو نیز فعالیت آنزیم استیل‌کولین استراز در گروه دریافت کننده عصاره گیاه زیرفون به همراه دارو اسکوپولامین، کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه بیمار نشان داد. این نتایج نشان دهنده ی اثر مهاری ترکیبات موجود در گیاه زیرفون بر فعالیت آنزیم استیل کولین استراز می باشد.

در مطالعه حاضر به بررسی اثرات محافظت عصبی عصاره زیرفون در دوزهای مختلف، بر شاخص‌های رفتاری، وضعیت آنتی‌اکسیدانی در بافت کورتکس و هیپوکمپ پرداخته شد. نتایج حاصل از داده‌های رفتاری نشان دهنده ی بهبود در اختلالات حافظه و یادگیری القا شده با اسکوپولامین در گروه درمان شده با عصاره زیرفون می-باشد. همچنین نتایج حاصل از شاخص های آنتی اکسیدانی در بافت کورتکس و هیپوکامپ حاکی از آن است که تیمار با عصاره زیرفون در غلظت های ۲۲۵ و ۳۰۰ موجب افزایش در میزان فعالیت آنزیم های CAT و SOD می-گردد. عصاره زیرفون غنی از ترکیبات با خاصیت آنتی اکسیدانی است. همچنین نتایج نشان دهنده ی اثر مهاری عصاره زیرفون بر فعالیت آنزیم استیل‌کولین استراز در دوز ۳۰۰ می باشد. به طور کلی نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که مصرف عصاره زیرفون می‌تواند به عنوان یک منبع طبیعی با خاصیت آنتی اکسیدانی قوی برای درمان اختلالات حافظه و یادگیری القا شده با اسکوپولامین باشد. بنابراین باتوجه‌به خاصیت آنتی اکسیدانی و استفاده گسترده گل و برگ عصاره زیرفون در درمان بسیاری از بیماری‌ها، بررسی بخش های دیگرگیاه و همچنین ماده موثره گیاه زیرفون و مطالعه مکانیسم های مولکولی در کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از مصرف اسکوپولامین به سایر پژوهشگران علاقمند به این زمینه پیشنهاد می‌گردد.

سپاسگزاری

بدینوسیله نویسندگان این مقاله از مجموعه علوم زیستی دانشگاه مازندران برای فراهم نمودن امکانات مورد نیاز و از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه مازندران به دلیل حمایتهای مالی کمال سپاسگزاری را دارند.

منابع

1- Aebi H (1984). Catalase in vitro. In Methods in enzymology, Academic press, 105: 121-126.

2- Ahmed T, & Gilani A.H (2009). Inhibitory effect of curcuminoids on acetylcholinesterase activity and attenuation of scopolamine-induced amnesia may explain medicinal use of turmeric in Alzheimer's disease. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 91(4): 554-559. https://doi.org/10.1016/j.pbb.2008.09.010

DOR: 20.1001.1.23832614.1402.36.1.5.6

3- Benton A.L(1991). The prefrontal region: Its early history. In Levin, Harvey, S.; Eisenberg, Howard, M.; Benton, Arthur, L. (eds.). Frontal lobe function and dysfunction. New York: Oxford University Press: 19.

4- Brickman G (2000). Herbal Medicine. London, Integrative Medicine Communication:pp 240-242

5- Brozoski T.J, Brown R.M, Rosvold H.E, & Goldman P.S (1979). Cognitive deficit caused by regional depletion of dopamine in prefrontal cortex of rhesus monkey. Science, 205(4409): 929-932. https://doi.org/10.1126/science.112679

6- Cárdenas-Rodríguez N, González-Trujano M. E, Aguirre-Hernández E, Ruíz-García M, Sampieri A, Coballase-Urrutia E, & Carmona-Aparicio L (2014). Anticonvulsant and antioxidant effects of Tilia americana var. mexicana and flavonoids constituents in the pentylenetetrazole-induced seizures. Oxidative medicine and cellular longevity: 2014. https://doi.org/10.1155/2014/329172

7- Czygan FC (1997). Linden (Tilia spec.)-Linden flowers. Z Phytoter 18: pp 242-246.

8- Devi W. B, Sengottuvelu S, Haja S. S, Lalitha V, & Sivakumar T (2011). Memory enhancing activities of Ficus religiosa leaves in rodents. International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy (IJRAP), 2(3): 834-838.

9- Drevets W. C, & Furey M. L (2010). Replication of scopolamine's antidepressant efficacy in major depressive disorder: a randomized, placebo-controlled clinical trial. Biological psychiatry, 67(5): 432-438. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2009.11.021

10- Dudchenko P. A (2004). An overview of the tasks used to test working memory in rodents. Neuroscience & Biobehavioral Reviews, 28(7): 699-709. https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2004.09.002

11- El-Sherbiny D.A, Khalifa A.E, Attia A.S, & Eldenshary E.S (2003). Hypericum perforatum Extract Demonstrates Antioxidant Properties against Elevated Rat Brain Oxidative Status Induced by Amnestic Dose of Scopolamine. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 76: 525-533. https://doi.org/10.1016/j.pbb.2003.09.014

12- Ellman G. L, Courtney D. K, Andreas V, & Featherstone R. M (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochemical Pharmacology, 7: 88-95. https://doi.org/10.1016/0006- 2952(61)90145-9

13- Eric R. Kandel, Yadin Dudai, & Mark R. Mayford (2014). The Molecular and Systems Biology of Memory. Cell, 157(1):163-86. https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.03.001

14- EslImi Esfahani, D., Oryan, S., & Hatami, M. (2018). Effect of Marshmallow extract on improving passive avoidance memory disorders in male Wistar rats. Journal of Animal Research (Iranian Journal of Biology), 31(1), 14-24.

15- Fan Y, Hu J, Li J, Yang Z, Xin X, Wang J, & Geng M (2005). Effect of acidic oligosaccharide sugar chain on scopolamine-induced memory impairment in rats and its related mechanisms. Neuroscience letters. 374(3): 222-226. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2004.10.063

16- Fluke H (2000). Medicinal plants, 5th ed, Tehran, Roozbahan Publication: pp 97.

17- Fuster J. M (2008). The prefrontal cortex. London: Academic Press/ Elsevier.

18- Hajizadeh Moghaddam A, Amini S, Ebrahimi S, & Nazifi E (2021). Antidepressant and antioxidant effects of cyanobacterium Nostoc commune in a rat brain ischemia/reperfusion model. Journal of Animal Research (Iranian Journal of Biology), 34(4): 319-331.

19- Haratian Z, Valizadegan F, & Seyedalipour B (2020). Protective effects of "Ziziphus jujuba" fruit extract on morphine-induced hippocampal oxidative stress and spatial memory impairment in rats. Journal of Animal Research (Iranian Journal of Biology), 33(3): 244-256.

20- Hemmati Borujeni N, Eidi A, Oryan S, & Mortazavi P (2020). Effect of Tilia platyphyllos on Cadmium Chloride-Induced Testicular Damage in Adult Male Wistar Rats. Research in Medicine, 44(1): 270-275.

21- Jonides J, Smith E.E, Koeppe R.A, Awh E, Minoshima S, & Mintun M.A (1993). Spatial working memory in humans as revealed by PET. Nature 363: 623–625. https://doi.org/10.1038/363623a0

22- Kim, J. S., & Levin, E. D. (1996). Nicotinic, muscarinic and dopaminergic actions in the ventral hippocampus and the nucleus accumbens: effects on spatial working memory in rats. Brain research, 725(2), 231-240. https://doi.org/10.1016/0006-8993(96)00213-2

23- Kobayashi H, Thanapreedawat P, Inui N, Sakamoto K, Kim M, Yoto A, & Yokogoshi H (2013). GABA affects novel object recognition

DOR: 20.1001.1.23832614.1402.36.1.5.6

memory and working memory in rats. Journal of nutritional science and vitaminology, 59(2): 152-157. https://doi.org/10.3177/jnsv.59.152

24- Lueptow L.M (2017). Novel object recognition test for the investigation of learning and memory in mice. Journal of Visualized Experiments, 126: 55718. https://dx.doi.org/10.3791/55718

25- MarKlund S, & Marklund G (1974). Involvement of the Superoxide Anion Radical in the Autoxidationof Pyrogallol and a Convenient Assay for Superoxide Dismutase. European journal of biochemistry, 47(3), 469–474. https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1974. tb03714.x

26- Martinez JR, Joe L, & Raymond PK (1998). Neurobiology of learning and memory. San Diego: Academic Press.

27- Matsuda H, Ninomiya K, Shimoda H, & Yoshikawa M (2002). Hepatoprotective principles from the flowers of Tilia argentea (linden): structure requirements of tiliroside and mechanisms of action. Bioorganic & medicinal chemistry, 10(3): 707-712. https://doi.org/10. 1016/S0968-0896(01)00321-2

28- Oh J.H, Choi B.J, Chang M.S, & Park S.K (2009). Nelumbo nucifera Semen Extract Improves Memory in Rats with Scopolamine-Induced Amnesia through the Induction of Choline Acetyltransferase Expression. Neuroscience Letters, 461: 41-44. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2009.05.045

29- Owen A.M, Downes J.J, Sahakian B.J, Polkey C.E, & Robbins T.W (1990). Planning and spatial working memory following frontal lobe lesions in man. Neuropsychologia, 28(10): 1021–1034. https://doi.org/10.1016/0028-3932(90) 90137-d

30- Robinson L, Platt B, & Riedel G (2011). Involvement of the cholinergic system in conditioning and perceptual memory. Behavioural brain research, 221(2): 443-465. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.01.055

31- Sakurai T, Kato T, Mori K, Takano E, Watabe S, & Nabeshima T (1998). Nefiracetam elevates extracellular acetylcholine level in the frontal cortex of rats with cerebral cholinergic dysfunctions: an in vivo microdialysis study. Neuroscience letters, 246(2): 69-72. https://doi.org/10.1016/S0304-3940(98)00244-4

32- Shi J, Xue W, Zhao W. J, & Li K. X (2013). Pharmacokinetics and dopamine/acetylcholine releasing effects of ginsenoside Re in hippocampus and mPFC of freely moving rats. Acta Pharmacologica Sinica, 34(2): 2. https://doi.org/10.1038/aps.2012.147

33- Sies H (1985). Hydroperoxides and thiol oxidants in the study of oxidative stress in intact cells and organs. Oxidative Stress: pp 73-90.

34- Tsai F-S, Peng W-H, & Wang W-H (2007). Effects of luteolin on learning acquisition in rats: involvement of the central cholinergic system. Life sciences, 80(18): 1692-8. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2007.01.055

35-Vandierendonck A (2016). A Working Memory System with Distributed Executive Control. Perspectives on psychological science: a journal of the Association for Psychological Science, 11(1): 74-100. https://doi.org/10.1177/174569 1615596790

36- Volak J Stodola JIRI (1997). Text of medicinal plants, Translator: Par Saed Zaman, 4th ed, Grund edition, Tehran:pp 322-3.

37- Weiten W (2013). Variations in psychology (9 ed.). Belmont, CA: Wadsworth: pp 281–282.

38- Yang Y, & Raine A (2009). Prefrontal structural and functional brain imaging findings in antisocial, violent, and psychopathic individuals:a meta-analysis. Psychiatry research, 174(2): 81–88. https://doi.org/10.1016 /j.pscychresns. 2009.03.012

39- Zarban A, Malkaneh M, Hasanpour M, Najari M, & Abad M (2004). Evaluation of antioxidant properties in 28 herbs in Iran. Journal of Birjand University of Medical Sciences, 11(1): 5-12.

40- Zargari A (1997). Medicinal plants, 7th ed, Vol 1, Tehran, Tehran University Publications: pp 399-402.

41- Zarrindast MR, Bakhsha A, Rostami P, & Shafaghi B (2002). Effects of intrahippocampal injection of GABAergic drugs on memory retention of passive avoidance learning in rats. Journal of psychopharmacology, 16(4): 313–319. https://doi.org/10.1177/026988110201600405

مقاله پژوهشی
DOR: 20.1001.1.23832614.1402.36.1.5.6

Evaluation of Zirfon(*Tilia platyphyllos)* extract on scopolamine-induced working memory impairment in male Wistar rats; Involvement of antioxidant mechanisms

Khayatomrani S.[1], Valizadegan F.[1], Seyedalipour B.[2*] and Nazifi E.[3]

[1] Dept. of Animal Sciences, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, I.R. of Iran

[2] Dept. of Molecular and Cell Biology, Faculty of Basic Science University of Mazandaran, Babolsar, I.R. of Iran

[3] Dept. of Plant Sciences, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, I.R. of Iran

Abstract

Scopolamine impairs memory by causing oxidative stress in brain cells, especially the cortex and hippocampus. Medicinal plants with various effective compounds can have antioxidant effects. The aim of this study is to investigate the effect of the methanolic extract of Zirfon plant on oxidative stress and working memory impairment induced by scopolamine in male Wistar rats. In this experimental study, thirty-six male Wistar rats were randomly divided into six groups of 6. The control group, Scopolamine group (1 mg/kg), Extract Group (300 mg/kg), and Extract groups 100, 225, and 300 mg/kg together with scopolamine which received extracts as gavage and scopolamine intraperitoneally for 10 days. After performing the behavioral test of the New Object Identification Test (NORT), hippocampal and cortex tissues were sampled to measure the activity of catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), and acetylcholinesterase (AChE). Our results showed that injection of scopolamine reduces the discrimination index in NORT. The dose of 300 extracts had the highest effect, so even in its administration together with scopolamine, a significant ($p<0.001$) reduction in the number of working memory errors was created. Biochemical findings in hippocampus and Cortex Tissues showed that scopolamine decreased the activity of antioxidant enzymes (CAT and SOD) and increased the activity of AChE. Treatment with Zirofen extract restored the activity of SOD, CAT, and AChE. The results of this research indicate that Zirfon extract has a strengthening effect on working memory and generally exerts its effect through antioxidant activity.

Key words: Working memory; cortex; Scopolamine; Antioxidant; Zirfon