

Original Article

Effect of compaind extract of *Portulaca olerace*, *Urtica dioica* and *Boswellia serrata* on memory and number of neurons in CA1 area of hippocampus in induced multiple sclerosis rats

Golnaz Mirhosseini (M.Sc), M.Sc in Animal Biology, Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran. ORCID ID: 0000-0002-6818-5510

***Maryam Tehranipour (Ph.D)**, **Corresponding Author**, Associate Professor, Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran. maryam_tehranipour@mshdiau.ac.ir ORCID ID: 0000-0001-5302-5808

Naser Mahdavi Shahri (Ph.D), Professor, Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, Iran. ORCID ID: 0000-0002-4792-7570

Abstract

Background and Objective: Multiple Sclerosis (MS) is a neurologic necrotic and chronic illness that causes by demyelination in CNS. One of the common clinical symptoms in MS is cognitive disorders. The most common cognitive defects in patients with MS are reduction of memory and information processing rate hippocampus functions in brain are memory and learning. This study was done to determine the function mechanism of memory discover by study on hippocampus. Nowadays tendency of herbal therapy is increased because of drug's side effects. This study's purpose that is from experimental typ effect of compaind extract of *Portulaca olerace*, *Urtica dioica* and *Boswellia serrata* on memory and number of neurons in CA1 area of hippocampus in induced multiple sclerosis rats.

Methods: In this experimental study 30 male adult rats were randomly allocated into control group, sham group (salin injection), (MS + salin) group, (MS + mixture extract, dose of 200 mg/kg), (MS + mixture extract, dose of 400 mg/kg). MS model was induced by intra hippocampal injection a single dose of ethidium bromide (0.01% ethidium bromide sulation in 0.9% salin) and in 3 microlitre volume with 1 microlitre in minute rate intraperitoneally. Compaind extract of *Portulaca olerace*, *Urtica dioica* and *Boswellia serrata* were injected as the treatment for 21 days. The shuttle box test was used for evaluation of memory. Dissector method was used for neural density in CA1 of hippocampus. Histopathology method was used for evaluation of the alteration of cells.

Results: Neural density in MS induced group was singnificantly reduced in comparison with control and sham groups ($P<0.05$). Neural density was singnificantly increased in treatment groups in comparison with MS induced group ($P<0.05$). Histological results showed that induction of MS caused the disrution of neuron cells in compare to controls, but intraperitonal injection of compaind extract cause neurogenesis in tertment groups. Memory in MS induced group was singnificantly reduced in comparison with control and sham groups ($P<0.05$), but memory was singnificantly increased in treatment groups in comparison with MS induced group ($P<0.05$).

Conclusion: Compaind extract of *Portulaca olerace*, *Urtica dioica* and *Boswellia serrata* with dosages of 200 and 400 mg/kg/bw due to neurogenesis and amilioration can effective in memory recovery and neural necrosis in MS disease.

Keywords: Multiple Sclerosis, Hippocampus, Neurogenesis, *Portulaca olerace*, *Urtica dioica*, *Boswellia serrata*, Memory

Received 27 Sep 2017

Revised 28 Feb 2018

Accepted 3 Apr 2018

اثر عصاره هیدروالکلی ترکیبی سه گیاه خرفه، گزنه، کندر بر حافظه

و تعداد سلول‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس

ORCID ID: 0000-0002-6818-5510

کلناز میرحسینی، کارشناس ارشد زیست‌شناسی - فیزیولوژی جانوری، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه زیست‌شناسی، مشهد.

ORCID ID: 0000-0001-5302-5808

* دکتر مریم طهرانی پور، دانشیار، دکتری فیزیولوژی جانوری، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه زیست‌شناسی، مشهد.

ORCID ID: 0000-0002-4792-7570

دکتر ناصر مهدوی شهری، استاد، دکتری سیتولوژی-هیستولوژی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه زیست‌شناسی، مشهد.

چکیده

زمینه و هدف: مولتیپل اسکلروزیس (Multiple Sclerosis: MS) یک بیماری نورولوژیک تخریب‌کننده و مزمن است که در نتیجه میلین‌زدایی در سیستم عصبی مرکزی ایجاد می‌شود. یکی از نشانه‌های بالینی شایع در بیماری MS اختلالات شناختی و شایع‌ترین نقایص شناختی کاهش حافظه و سرعت پردازش اطلاعات است. این مطالعه به منظور تعیین اثر عصاره هیدروالکلی ترکیبی سه گیاه خرفه، گزنه، کندر بر حافظه و تعداد سلول‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس انجام شد.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی ۳۰ سر موش صحرایی نر پس از کاتول‌گذاری در ناحیه CA1 هیپوکامپ به‌طور تصادفی به پنج گروه شش‌تایی تقسیم شدند. گروه‌ها شامل گروه کنترل، گروه شم (تزریق سالین)، گروه MS دریافت‌کننده سالین، گروه MS دریافت‌کننده عصاره هیدروالکلی ترکیبی (تیمار اول ۲۰۰ mg/kg/bw) و گروه MS دریافت‌کننده عصاره هیدروالکلی ترکیبی (تیمار دوم ۴۰۰ mg/kg/bw) بودند. مدل MS با تزریق داخل هیپوکامپی اتیدیوم بروماید به صورت تک دوز (محلول ۰/۰۱ درصد اتیدیوم بروماید در سالین ۰/۹ درصد استریل) و در حجم ۳ میکرولیتر با سرعت یک میکرولیتر در دقیقه به شکل تزریق درون بطنی ایجاد شد. عصاره هیدروالکلی ترکیبی به مدت ۲۱ روز به شکل داخل صفاقی به عنوان تیمار تزریق شد. برای ارزیابی حافظه از تست شاتل باکس و برای بررسی دانسته نوروئی از روش دایسکتور و برای سنجش تغییرات سلولی از روش هیستوپاتولوژی استفاده گردید.

یافته‌ها: میانگین تعداد نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه MS دریافت‌کننده سالین نسبت به گروه‌های کنترل و شم کاهش آماری معنی‌دار نشان داد ($P < 0/05$). افزایش تعداد نورون‌ها در گروه‌های تیمار اول و دوم نسبت به گروه MS دریافت‌کننده سالین از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0/05$). نتایج بافت‌شناسی نشان‌دهنده اثر القای MS بر بافت و تخریب نوروئی نسبت به گروه کنترل بود و اثر تزریق عصاره هیدروالکلی ترکیبی در گروه‌های تیمار و ایجاد نورون‌ز و ترمیم را در این دو گروه نشان داد. القای مولتیپل اسکلروزیس در گروه MS دریافت‌کننده سالین باعث اختلال در حافظه گردید که نسبت به گروه‌های کنترل و شم از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0/05$). تزریق عصاره هیدروالکلی ترکیبی در هر دو گروه تیمار موجب بهبود حافظه گردید که نسبت به گروه MS دریافت‌کننده سالین از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: عصاره هیدروالکلی ترکیبی سه گیاه خرفه، گزنه و کندر با دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به دلیل اثر ترمیم و نورون‌زایی می‌تواند در بهبودی حافظه و تخریب نوروئی در بیماری مولتیپل اسکلروزیس موثر باشد.

کلید واژه‌ها: مولتیپل اسکلروزیس، هیپوکامپ، نورون‌ز، خرفه، کندر، گزنه، حافظه

* نویسنده مسؤل: دکتر مریم طهرانی پور، پست الکترونیکی maryam_tehrani@shdiau.ac.ir

نشانی: مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، گروه زیست‌شناسی، تلفن و نمابر ۰۵۱-۳۸۴۳۵۰۵۰

وصول مقاله: ۱۳۹۶/۷/۵، اصلاح نهایی: ۱۳۹۶/۱۲/۹، پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۱/۱۴

مقدمه

یادگیری و حافظه است. مکانیسم عملکرد حافظه از طریق مطالعه روی هیپوکامپ کشف شد. تشکیلات هیپوکامپ در مغز شامل جیروس دندان‌های، هیپوکامپ اصلی و سویکولوم است. هیپوکامپ اصلی خود از نواحی CA1، CA2، CA3 و CA4 تشکیل شده است (۳). اوج سنی ابتلا به MS ۲۰ تا ۴۰ سال است. این بیماری از یک طرف استقلال و توانایی بیمار برای شرکت در اجتماع را تهدید می‌کند و از سوی دیگر علائم و دوره‌های غیرقابل پیش‌بینی آن اثر

مولتیپل اسکلروزیس (Multiple Sclerosis: MS) یک بیماری نورولوژیک تخریب‌کننده و مزمن است که در نتیجه میلین‌زدایی در سیستم عصبی مرکزی ایجاد می‌شود (۱). یکی از نشانه‌های بالینی شایع در بیماری MS، اختلالات شناختی است. شایع‌ترین نقایص شناختی در بیماران مبتلا به MS کاهش حافظه و سرعت پردازش اطلاعات است (۲). در مغز عملکردهای اصلی هیپوکامپ شامل

بارزی بر کیفیت زندگی و سلامت شخص دارد (۴). در حالی که درمان قطعی و شناخته شده‌ای برای این بیماری وجود ندارد (۵). امروزه در پی گسترش بیماری‌ها استفاده از داروهای شیمیایی نیز افزایش یافته است و به علت عواملی مانند بروز عوارض جانبی ناشی از مصرف طولانی مدت و بیش از حد آنها، وجود تحمل دارویی و ناکارآمدی آنها با گذشت زمان، همچنین هزینه‌های تحمیلی بر بیماران؛ تمایل به درمان‌های جایگزین و سنتی بیشتر شده است. مصرف گیاهان دارویی علاوه بر کاهش هزینه‌های درمان در بسیاری از جوامع نتایج رضایت‌بخشی داشته است (۶). خرفه یکی از گیاهان شناخته شده در طب سنتی است که از زمان‌های دور مورد استفاده قرار گرفته و در درمان بسیاری از بیماری‌ها کاربرد دارد. خرفه یا پریپین (پریپین) با نام علمی *Portulaca olerace* از خانواده *Oleracea* گیاهی است علفی، یک ساله با ساقه‌ای گوشتدار و برگ‌های ضخیم و متقابل آبدار سبز با ساقه‌های قرمز، گل‌های زرد یا سفید کوچک و تخم‌های سیاه ریز که خواص دارویی دارند. خرفه دارای اثرات ضد درد و ضدالتهابی بوده و غنی‌ترین منبع گیاهی و دارای اسیدهای چرب امگا-۳ است (۶). گزنه با نام علمی *Urtica dioica* از خانواده *Urticaceae* گیاهی علفی چندساله است. گزنه در درمان آرتрит، رماتیسم مزمن و فقدان قدرت عضلانی استفاده می‌شود. همچنین ضماد آن برای برطرف کردن دردهای نقرس، سیاتیک و مفاصل به کار می‌رود (۷). کندر با نام علمی *Boswellia serrata* نوعی رزین است که از درختی از خانواده *Burseraceae* ایجاد می‌گردد و خواص ضدالتهابی، تعدیل سیستم ایمنی و تقویت حافظه آن به اثبات رسیده است (۸). این مطالعه به منظور تعیین اثر عصاره هیدروالکلی ترکیبی سه گیاه خرفه، گزنه و کندر بر حافظه و تعداد سلول‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ موش‌های صحرایی مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۳۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۳۰۰ گرم و سن ۳-۲/۵ ماهه خریداری شده از انستیتو پاستور تهران در آزمایشگاه تحقیقات فیزیولوژی دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد طی تابستان ۱۳۹۵ انجام شد. حیوانات قبل از شروع کار به مدت دو هفته در شرایط آزمایشگاهی تحت کنترل دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعته با رطوبت نسبی ۵۰ تا ۵۵ درصد، تهویه مناسب و تغذیه با غذای خشک استاندارد و آب شرب شهری نگهداری شدند. در این مطالعه پروتکل اخلاقی کار بر روی حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید.

در ابتدا سه گیاه خرفه (کد هرباریوم ۱۰۰۳۱)، گزنه (کد هرباریوم ۱۰۰۳۰) و کندر (کد هرباریوم ۱۰۰۳۲) شسته و در

حرارت ۲۵ درجه سانتی‌گراد در سایه خشک شدند. سپس توسط آسیاب برقی به صورت پودر درآمدند. از هر یک از سه گیاه خرفه، گزنه و کندر، ۴۰۰ گرم پودر طی دو مرحله و هر بار ۲۰۰ گرم داخل کاغذ صافی پیچیده شده و درون محفظه دستگاه سوکسله قرار داده شد. سپس ۱۵۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد با ۱۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و مخلوط حاصل در محفظه دستگاه ریخته شد. همچنان که کیسه حرارتی دستگاه آرام آرام در حال گرم شدن بود؛ حلال (آب و الکل) نیز گرم شده و عصاره گیاه با حلال مخلوط گشته و به بالون بازگشت و به این ترتیب از حجم کل محلول کاسته نشد. پس از آن برای خشک شدن کامل درون انکوباتور با دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. عصاره‌گیری برای هر گیاه به شکل مجزا و در دو روز (روزی ۴ ساعت) انجام شد تا اطمینان حاصل شود که تمام عصاره قابل حل از پودر استخراج شده باشد (۹).

موش‌ها به طور تصادفی به ۵ گروه ۶ تایی به شرح زیر تقسیم شدند. طول دوره مطالعه ۲۱ روز بود.

گروه ۱ (کنترل): از آب و غذای استاندارد استفاده کردند و هیچ مداخله‌ای به عمل نیامد.

گروه ۲ (شم، سالین): سالین را به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

گروه ۳ (MS دریافت کننده سالین): برای ایجاد مدل MS پس از انجام جراحی و کانول گذاری از طریق متداستریوتاکس، سم اتیدیوم بروماید به وسیله سرنگ هامیلتون به صورت تک دوز (محلول ۰/۱ درصد اتیدیوم بروماید در سالین ۰/۹ درصد استریل) و در حجم ۳ میکرولیتر با سرعت یک میکرولیتر در دقیقه به صورت درون بطنی تزریق شد و از همان روز به مدت ۲۱ روز، سالین به صورت داخل صفاقی تزریق شد.

گروه ۴ (تیمار اول، MS دریافت کننده عصاره هیدروالکلی ترکیبی): مدل MS ایجاد شد و از همان روز به مدت ۲۱ روز، عصاره هیدروالکلی ترکیبی با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی تزریق گردید.

گروه ۵ (تیمار دوم، MS دریافت کننده عصاره هیدروالکلی ترکیبی): مدل MS ایجاد شد و از همان روز به مدت ۲۱ روز، عصاره هیدروالکلی ترکیبی با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی تزریق گردید (۱۰ و ۱۱).

برای انجام عمل جراحی و کانول گذاری، حیوانات به وسیله تزریق داخل صفاقی کتامین و زایلین بیهوش شدند و در دستگاه استریوتاکسی در موقعیت مجسمه مسطح قرار گرفتند. کانول‌های به کار رفته از سرسوزن‌های شماره ۲۲ ساخته شده و به صورت دوطرفه در ناحیه CA1 هیپوکامپ قرار گرفتند (۱۲). مختصات مورد

روش در یک چهارچوب مرجع نورون‌ها شمارش شدند. اگر ذره‌ای در چهارچوب مرجع بود؛ ولی در چهارچوب بعدی (در برش متوالی بعدی) نبود؛ شمرده شد و اگر نورونی در هر دو چهارچوب بود؛ شمارش نگردید. در مجموع ۹۰۰ برش شمارش گردید (۱۲). پس از شمارش نورون‌ها دانسیته نورونی (ND) توسط فرمول زیر محاسبه شد (۱۵).

$$ND = Q / \text{Frame} \times V \text{ disector}$$

Q مجموع نورون‌های شمارش شده در یک نمونه
 Frame : مجموع دفعات نمونه‌برداری شده
 $V \text{ disector}$: حجم چهارچوب نمونه‌برداری (برابر با $H \times A \text{ Frame}$)
 $A \text{ Frame}$: مساحت چهارچوب نمونه‌برداری
 H فاصله بین دو برش یا ضخامت هر برش

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Minitab و آزمون ANOVA تجزیه تحلیل شدند. پس از معنی‌دار شدن آزمون ANOVA از آزمون Tukey برای مقایسه دو به دو استفاده شد. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

میانگین نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ در بین گروه‌های مختلف در جدول یک آمده است. در گروه MS دریافت‌کننده سالیین کاهش تعداد نورون‌ها مشاهده شد که نسبت به گروه‌های کنترل و شم معنی‌دار بود ($P < 0/001$). افزایش تعداد نورون‌ها در گروه‌های تیمار اول و دوم نسبت به گروه MS دریافت‌کننده سالیین معنی‌دار بود ($P < 0/001$). دانسیته نورونی گروه‌های تیمار به دانسیته نورونی گروه‌های کنترل و شم نزدیک بود (جدول یک).

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار دانسیته نورونی ناحیه CA1 هیپوکامپ موش‌های صحرائی در گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها	میانگین و انحراف معیار	
	راست	چپ
کنترل	14.0 ± 7.04	13.6 ± 5.44
شم	13.5 ± 4.71	13.1 ± 3.25
MS + سالیین	7.75 ± 3.71	7.81 ± 3.15
تیمار اول	13.5 ± 4.51	13.4 ± 2.24
تیمار دوم	13.0 ± 1.32	13.1 ± 1.41

گروه‌های تیمار اول و دوم دریافت‌کننده عصاره هیدروآلکلی ترکیبی گیاهان خرفه، گزنه و کندر به ترتیب با دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن

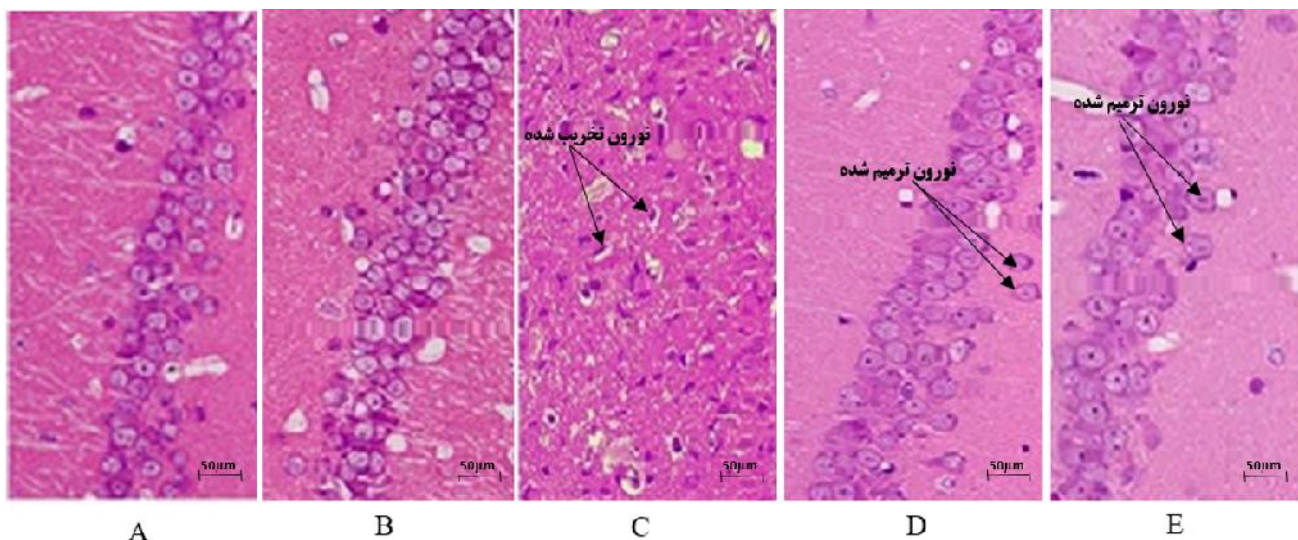
نتایج بافت‌شناسی نشان‌دهنده اثر القای MS بر بافت و تخریب نورونی نسبت به گروه کنترل بود و اثر تزریق عصاره هیدروآلکلی ترکیبی در گروه‌های تیمار و ایجاد نورژنز و ترمیم را در این دو گروه نشان داد (شکل یک).

نتایج آزمون حافظه (تست شاتل باکس) در جدول ۲ آمده است. شاخص حافظه در گروه‌ها براساس روش ارزیابی تست شاتل

استفاده طبق اطلس واتسون و پاکسینوس شامل DV ۳/۶- میلی‌متر، $1/5 \pm$ میلی‌متر و AP ۰/۸- میلی‌متر بودند (۱۳).

یک هفته پس از جراحی و طی دوره بهبودی، تزریق سم اتیدیوم بروماید آغاز گردید. تزریق درون هیپوکامپ توسط یک لوله پلی‌اتیلنی که به سرنگ‌های ۶ میلی‌لیتری متصل شده بود؛ انجام گردید. هر تزریق به آرامی و با سرعت یک میکرولیتر در دقیقه صورت گرفت (۱۲). به منظور انجام آزمون حافظه (تست شاتل باکس) ابتدا همه گروه‌های آزمایشی به دستگاه عادت داده شدند. به این ترتیب که موش‌های صحرائی هر گروه یکی یکی درون دستگاه قرار گرفتند و پنج ثانیه بعد درب بین دو محفظه برداشته شد و به مدت دو دقیقه به موش اجازه داده شد تا آزادانه در دو محفظه تاریک و روشن رفت و آمد کند. بلافاصله پس از ورود حیوان به قسمت تاریک، درب بسته و حیوان به قفس بازگردانده شد. ۳۰ دقیقه پس از عادت، مرحله اکتساب انجام شد. به طوری که موش در قسمت روشن جعبه گذاشته شد و دو دقیقه به حیوان مهلت داده شد تا وارد محفظه تاریک شود. بلافاصله بعد از ورود موش به قسمت تاریک درب بسته شده و شوک الکتریکی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۱/۲ آمپر به مدت ۱/۵ ثانیه به پای حیوان وارد شد. سپس موش از محفظه تاریک خارج و به قفس برگردانده شد. پس از ۲ دقیقه موش مجدداً در ناحیه روشن قرار گرفت تا تست یادگیری انجام شود. عدم ورود به ناحیه تاریک به مدت ۱۲۰ ثانیه به عنوان یادگیری موفق در نظر گرفته شد. به منظور به‌خاطر آوری که ۲۴ ساعت بعد از آموزش صورت گرفت؛ موش در قسمت روشن قرار گرفت و پنج ثانیه بعد درب باز گردید و زمانی که طول کشید تا حیوان وارد قسمت تاریک شود و مدت زمانی که در آنجا ماند؛ به مدت ده دقیقه بررسی شد. داده‌های جمع‌آوری شده از پارامترهای مذکور در گروه‌های آزمایشی با استفاده از تست‌های آماری مناسب مورد مقایسه قرار گرفتند. حیوانات در روز ۲۱ ام با کتامین زایلین بیهوش شدند و سر آنها به وسیله گیوتین جدا شد. پس از بیرون آوردن مغز و خارج‌سازی هیپوکامپ، نمونه‌های تهیه شده به مدت دو هفته درون فیکساتور قرار گرفت و سپس وارد مراحل پاساژ بافتی شد که شامل سه مرحله آبگیری از بافت با استفاده از الکل، شفاف‌سازی توسط زایلین و مرحله آغشتگی با پارافین بود. برش‌گیری با دستگاه میکروتوم به صورت سریال انجام گرفت. به طوری که برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرون ایجاد گردید. از هر ۳۰ برش ۳ برش متوالی به لام منتقل گشت و در نهایت از هر نمونه ۳۰ لام تهیه شد (۱۴). نمونه‌ها با رنگ هماتوکسیلین اتوزین رنگ آمیزی شدند و در مرحله بعد با استفاده از فتومیکروسکوپ از لام‌ها عکسبرداری شد.

برای شمارش نورونی از روش دایسکتور استفاده شد. در این



شکل ۱: نتایج بافت شناسی در ناحیه CA1 هیپوکامپ موش‌های صحرایی گروه‌های مورد مطالعه (A) کنترل (سالین)، (B) شام (تزریق سالین)، (C) مولتیپل اسکروزیس توام با سالین، (D) مولتیپل اسکروزیس توام با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی ترکیبی، (E) مولتیپل اسکروزیس توام با دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره هیدروالکلی ترکیبی بزرگ‌نمایی $\times 40$ ، رنگ آمیزی H&E

عصاره خرفه دارای عوامل ترمیمی و ضدالتهابی از جمله فلانوئیدها است به طوری که در مطالعه قبلی ما عصاره خرفه پس از آسیب عصب سیاتیک، سبب افزایش بیان ژن نوروتروفین، بقای نورونی و رشد آکسون پس از آسیب عصبی گردید (۱۶).

خلیلی و همکاران نشان دادند عصاره گزنه قادر است التهاب ناشی از تزریق فرمالین را کاهش دهد. التهاب ناشی از فرمالین بیشتر به علت آزاد شدن واسطه‌های التهابی محیطی است. این واسطه‌ها به دنبال فاز حاد با تحریک گیرنده‌های درد، آزاد می‌شوند و احتمالاً عصاره گزنه از طریق مهار آزادسازی واسطه‌های التهابی محیطی می‌تواند التهاب را کاهش دهد. در التهاب مزمن، واسطه‌های التهابی می‌توانند تولید و اثرات یکدیگر را تقویت کنند. بنابراین قدرت گزنه در برابر این هم‌گرایی بارز است (۱۷). در مطالعه حاضر عصاره هیدروالکلی ترکیبی در هر دو گروه تیمار موجب وقوع نوروزن و افزایش تعداد نورون‌ها گردید. با توجه به این که در بیماری MS وقایع مرتبط با تخریب نورونی توام با التهاب در سیستم عصبی مرکزی است؛ نوروزن حاصل از تزریق عصاره ترکیبی، احتمالاً با عملکرد مکانیسم‌های موثر در بهبود التهاب در سیستم عصبی مرکزی همراه است. یکی از مهم‌ترین خواص کندر تقویت حافظه است. کندر باعث افزایش چشمگیر قابلیت‌های یادگیری به ویژه تقویت و نگهداری حافظه می‌شود و تاثیری مثبت بر روند تکامل مغز و شکل‌گیری مناسب درخت‌های دندرتی، اکسون‌ها و برقراری ارتباطات صحیح بین آنها دارد. بر اساس مطالعات کندر می‌تواند از آلزایمر جلوگیری کند و در معالجه آن نیز موثر باشد (۱۸). صادقی و همکاران نشان دادند کندر می‌تواند مناطق حساس یادگیری به

باکس، رفتن و یا نرفتن موش صحرایی به داخل قسمت تاریک دستگاه بود. القای مولتیپل اسکروزیس در گروه MS دریافت‌کننده سالین باعث اختلال در حافظه گردید که نسبت به گروه‌های کنترل و شام از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0.05$). تزریق عصاره هیدروالکلی ترکیبی در هر دو گروه تیمار موجب بهبود حافظه گردید که نسبت به گروه MS دریافت‌کننده سالین از نظر آماری معنی‌دار بود ($P < 0.05$).

جدول ۲: نتایج آزمون حافظه (تست شاتل باکس) در موش‌های صحرایی گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها	نتایج آزمون حافظه					
	۶	۵	۴	۳	۲	۱
کنترل	+	+	+	+	+	+
شام	+	+	+	+	+	+
MS + سالین	-	-	-	-	-	-
تیمار اول	+	-	+	+	+	+
تیمار دوم	+	+	+	-	-	+

گروه‌های تیمار اول و دوم دریافت‌کننده عصاره هیدروالکلی ترکیبی گیاهان خرفه، گزنه و کندر به ترتیب با دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن علامت مثبت (+): سلامت حافظه، علامت منفی (-): اختلال حافظه

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه افزایش تعداد نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ و بهبود حافظه در گروه‌های تیمار شده با عصاره هیدروالکلی ترکیبی در مقایسه با گروه MS دریافت‌کننده سالین مشاهده شد. بررسی‌های هیستوپاتولوژی بر روی بافت‌ها بیانگر ترمیم نورونی و وقوع نوروزن بودند.

نتیجه گیری

این مطالعه نشان داد که اثر عصاره هیدروالکلی ترکیبی سه گیاه خرفه، گزنه، کندر بر وقوع نوروزنر، ترمیم نورونی و بهبودی حافظه موثر است. لذا می توان نتیجه گرفت احتمالاً هم افزایی این سه گیاه می تواند در بهبودی حافظه و تخریب نورونی در بیماری مولتیپل اسکلروزیس موثر باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه (شماره ۱۳۸۶۴) گلناز میرحسینی برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته زیست شناسی علوم جانوری - فیزیولوژی جانوری از دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد بود. بدین وسیله از همه همکاران دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد تشکر و قدردانی می نمایم.

References

- Dennison L, Moss-Morris R, Chalder T. A review of psychological correlates of adjustment in patients with multiple sclerosis. *Clin Psychol Rev.* 2009 Mar; 29(2): 141-53. doi: 10.1016/j.cpr.2008.12.001
- Chiaravalloti ND, DeLuca J. Cognitive impairment in multiple sclerosis. *Lancet Neurol.* 2008 Dec; 7(12): 1139-51. doi: 10.1016/S1474-4422(08)70259-X
- Duvernoy HM, Cattin F, Risold PY. The Human Hippocampus: Functional Anatomy, Vascularization and Serial Sections with MRI. 4th ed. New York: Springer. 2013; pp: 216-21.
- Bakhshae M, Forughipoor M, Esmaeili H, Rostami V, Razmara N. Involvement of the audiovestibular system in multiple sclerosis. *Iranian J Otorhinolaryngol.* 2007; 19(47): 27-32.
- Goldenberg MM. Multiple Sclerosis Review. *Pharmacy and Therapeutics.* 2012 Mar; 37(3): 175-84.
- Zarei A, Changizi Ashtiyani S, Taheri S. [The Effect of the Extract of Portulacaoleraceae on Physiological Functions of Body Tissues]. *Qom Univ Med Sci J.* 2015; 8(S1): 99-109. [Article in Persian]
- Babashpour-Asl M, Baleghi M, Sajadi P, Golalipour MJ. [Different Aspects and Results of Modern Studies of Urtica Dioica: A Review]. *J Babol Univ Med Sci.* 2014; 16(S1): 47-54. [Article in Persian] doi: 10.18869/acadpub.jbums.16.3.47
- Tavakkolifar B, Massoudi M, Zarringalam J. [Review on Pharmacological Activities of Gum olibanum]. *J Med Plants.* 2009; 4(32): 1-13. [Article in Persian]
- Cicchetti E, Chaintreau A. Comparison of extraction techniques and modeling of accelerated solvent extraction for the authentication of natural vanilla flavors. *J Sep Sci.* 2009 Jun; 32(11): 1957-64. doi: 10.1002/jssc.200800650
- Changizi Ashtiyani S, Zarei A, Taheri S, Ramazani M. [Effect of alcoholic extract of Portulaca Oleracea on serum level of thyroid hormones in hypercholesterolemic Rats]. *J Gorgan Univ Med Sci.* 2015; 17(2): 52-58. [Article in Persian]
- Najafi H, Mohamadi Yarijani Z, Changizi-Ashtiyani S,

خصوص هیپوکامپ را تحت تاثیر قرار دهد و به واسطه تغییراتی در قابلیت هدایت سیناپسی و تشکیل شبکه های سیناپسی جدید و افزایش توان سیناپسی در هیپوکامپ، موجب افزایش انتقال پیام ها و تقویت حافظه شود (۱۹). حضور آلکانوئیدها و فلاونوئیدها و فعالیت نوروتروپیک این مواد در کندر به اثبات رسیده که باعث بهبود حافظه می گردد. اثر ضد التهابی کندر به طور قطع ثابت شده است. با توجه به خواص این رزین و مکانیسم اثر آن دور از انتظار نیست که در درمان بیماری هایی چون مولتیپل اسکلروزیس نقش داشته باشد. از سوی دیگر به علت این که عوارض جانبی خاصی برای آن گزارش نشده؛ می تواند عنوان فراورده ای کم خطر در درمان بیماری مورد استفاده قرار گیرد (۱۸). در مطالعه حاضر عصاره هیدروالکلی ترکیبی در بهبود حافظه موثر بود که احتمالاً به دلیل وجود کندر بوده است.

- Mansouri K, Modarresi M, Madani SH, et al. Protective effect of Malva sylvestris L. extract in ischemia-reperfusion induced acute kidney and remote liver injury. *PLoS One.* 2017 Nov; 12(11): e0188270. doi: 10.1371/journal.pone.0188270
- Zarrin V, Hatami H, Ali Hemmati A. [The effect of intrahippocampal injection of estradiol on spatial memory in male rats during multiple sclerosis disease]. *J Fasa Univ Med Sci.* 2014; 4(3): 353-61. [Article in Persian]
- Paxinos G, Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates: Hard Cover Edition. 6th Ed. London: Academic Press. 2007; pp: 14-16.
- Jalili C, Salahshoor MR, Pourmotabbed A, Moradi S, Roshankhah Sh, Darehdori AS, et al. The effects of aqueous extract of Boswellia Serrata on hippocampal region CA1 and learning deficit in kindled rats. *Res Pharm Sci.* 2014 Sep-Oct; 9(5): 351-58.
- Behnam-Rasouli M, Nikravesh M, Mahdavi-Shahri N, Fazel A. The Effects of Local Fetal Brain Extract Administration on the Electromyogram of Crushed Sciatic Nerve in Rat. *IBJ.* 2001; 5 (2 and 3): 73-77.
- Hejazi S, Tehranipour M. [The Study of Effects of Aqueous and Alcoholic Extracts of Portulaca oleracea Leaves on NT3 Gene Expression in Degeneration of Alpha Neurons after Sciatic Nerve Compression in Rats]. *J Arak Uni Med Sci.* 2017; 19(12): 52-60. [Article in Persian]
- Khalili M, Sahraee H, Hassanpour Ezati M. [Anti-inflammatory Effect of Alcoholic Stinging Nettle Extract in Male NMRI Rats]. *J Med Plants.* 2007; 6(22): 46-53. [Article in Persian]
- Tavakkolifar B, Massoudi M, Zarringalam J. [Review on Pharmacological Activities of Gum olibanum]. *J Med Plants.* 2009; 4(32): 1-13. [Article in Persian]
- Sadeghi F, Khalaj-Kondori M, Hosseinpour Feizi M, Shaikhzadeh Hesari F. [The Effect of Aqueous Extract of Boswellia on Spatial Learning and Memory in Adult Male Rats]. *J Zanzan Uni Med Sci.* 2014; 22(95): 122-31. [Article in Persian]