

Effect of aqueous extract of *Lavandula angustifolia* on LTP induction in a rat model of Alzheimer disease

Soheili M¹, Rezaei Tavirani M², Salami M^{3*}

1- Student Research Committee, Faculty of Paramedical Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I. R. Iran.

2- Proteomic Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I. R. Iran.

3- Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, I. R. Iran.

Received February 16, 2016, 2015; Accepted August 3, 2016

Abstract:

Background: Alzheimer's disease (AD) is a progressive neurodegenerative disorder associated with deficits in synaptic plasticity. Long-term potentiation (LTP) is an experimental method for synaptic plasticity assessment. This study evaluated the effect of aqueous extract of *lavender* (*Lavandula angustifolia*) on induction of LTP in the CA1 region of hippocampus.

Materials and Methods: The animals were divided in 3 groups: Control animals receiving distilled water (CO), Alzheimer group receiving distilled water (AD); Alzheimer group receiving *lavender* extract (A+EXT). The electrophysiological recordings were carried out in 3 groups of rats. The baseline or tetanized extracellular postsynaptic field potentials (fEPSPs) were recorded in response to the stimulation of Schaffer collaterals.

Results: The data showed no effect of the extract on the baseline responses in all groups. While the recorded fEPSPs in the CO showed a substantial LTP, no potentiation was seen in the AD group. Administration of the aqueous extract of *lavender* effectively restored the LTP in A+EXT group.

Conclusion: In line with our previous reports, this study showed the positive effect of *lavender* extract on the induction of LTP in a rat model of Alzheimer disease.

Keywords: Alzheimer's disease, Hippocampus, Long-term potentiation, *Lavandula angustifolia*, Rat

* Corresponding Author.

Email: salami-m@kaums.ac.ir

Tel: 0098 913 361 2920

Fax: 0098 315 562 1157

Conflict of Interests: **No**

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, October, 2016; Vol. 20, No 4, Pages 315-322

بررسی اثر عصاره آبی اسطوخدوس بر شکل پذیری سیناپسی مدارهای ناحیه CA1 هیپوکامپ موش‌های صحرایی مدل آلزایمری

مسعود سهیلی^۱، مصطفی رضایی طاویرانی^۲، محمود سلامی^{۳*}

خلاصه:

سابقه و هدف: آلزایمر یک بیماری نورودژنراتیو پیش‌رونده می‌باشد که اختلال در انتقال و شکل‌پذیری سیناپسی را به دنبال دارد. تقویت دراز مدت (LTP) یک روش آزمایشگاهی برای سنجش حافظه و شکل‌پذیری سیناپسی است. در این مطالعه به بررسی اثر عصاره آبی اسطوخدوس بر القاء LTP در ناحیه CA1 هیپوکامپ موش‌های صحرایی آلزایمری پرداخته‌ایم.

مواد و روش‌ها: حیوانات به سه گروه کنترل دریافت‌کننده آب مقطر (CO)، آلزایمری دریافت‌کننده آب مقطر (AD) و آلزایمری دریافت‌کننده عصاره (AE) تقسیم شدند. ثبت الکتروفیزیولوژی حیوانات سه گروه مورد مطالعه انجام شد؛ بدین ترتیب که ابتدا پاسخ پایه و سپس پتانسیل پس‌سیناپسی تانیزه شده خارج سلولی در پاسخ به تحریک مسیر کولترال شافر در ناحیه CA1 هیپوکامپ ثبت گردید.

نتایج: داده‌ها نشان می‌دهد که عصاره هیچ‌گونه اثری بر پاسخ پایه ثبت شده از هیپوکامپ حیوانات نداشته است. پتانسیل پس‌سیناپسی ثبت شده از گروه CO نشان‌دهنده القاء LTP در هیپوکامپ حیوانات می‌باشد، درحالی‌که در حیوانات گروه AD هیچ اثری نداشته است. همچنین، تزریق عصاره سبب بهبود القاء LTP در حیوانات گروه AE شده است.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به‌دست آمده، این مطالعه اثر بهبود دهنده عصاره آبی اسطوخدوس را بر القاء LTP در حیوانات مدل آلزایمری نشان می‌دهد.

واژگان کلیدی: آلزایمر، هیپوکامپ، تقویت دراز مدت، اسطوخدوس، موش صحرایی

دو ماه‌نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره بیستم، شماره ۴، مهر و آبان ۱۳۹۵، صفحات ۳۲۲-۳۱۵

مقدمه

به نظر می‌رسد استیل کولین نقش مهمی در پاتولوژی بیماری آلزایمر داشته باشد؛ به طوری که کاهش مقدار آنزیم و یا کاهش فعالیت این آنزیم سبب بهبود بیماری آلزایمر می‌شود [۶،۵]. التهاب بافت مغز از جمله مکانیسم‌های دخیل در ایجاد بیماری آلزایمر می‌باشد. وجود میانجی‌های التهابی در مغز بیماران آلزایمری در مقایسه با افراد سالم دلیلی بر این مدعا می‌باشد. همچنین، بسیاری از این میانجی‌ها در محل‌های درگیر در بیماری آلزایمر تجمع می‌کنند [۸،۷]. هیپوکامپ در ذخیره و به‌خاطر آوری حافظه نقش مهمی دارد. پلاک‌های آمیلوئیدی سبب تغییرات پاتولوژیک در نورون‌های هیپوکامپ می‌شود. در انسان منطقه CA1 هیپوکامپ از مناطقی است که در بیماری آلزایمر دچار تغییر پاتولوژیک می‌شود [۱۰،۹]. به نظر می‌رسد انتقال سیناپسی نقش مهمی در پیدایش حافظه بلند مدت ایفا می‌کند. Long term Potentiation (LTP) یکی از روش‌های مدل‌سازی و سنجش فیزیولوژیک یادگیری و حافظه می‌باشد که می‌توان به‌وسیله آن میزان انتقال سیناپسی در ناحیه هیپوکامپ را اندازه‌گیری کرد. تجمع پلاک‌های آمیلوئیدی در مغز سبب کاهش القاء LTP در هیپوکامپ مغز می‌شود [۱۲،۱۱]. بسیاری از داروهای موجود برای درمان بیماری آلزایمر تنها قادرند تا بروز نشانه‌های بیماری را به تعویق بیاورند. در بسیاری از کشورها گونه‌هایی از گیاه اسطوخدوس به‌عنوان داروی گیاهی

آلزایمر نوعی بیماری نورودژنراتیو پیش‌رونده می‌باشد که در آن حافظه دچار اختلال می‌شود [۱]. از مشخصه‌های بیماری آلزایمر می‌توان به تجمع خارج سلولی پلاک‌های آمیلوئیدی و تجمع داخل سلولی کلافه‌های نوروفیبریلاری اشاره کرد [۲]. هایپرفسفریلاسیون پروتئین تائو سبب گسسته شدن این پروتئین‌ها از میکروتوبول‌های تشکیل دهنده مسیرهای عصبی شده و سبب تشکیل نوروفیلامنت‌ها می‌شود [۳]. پلاک‌های آمیلوئید بتا نیز در اثر شکستن پروتئین پیش‌ساز آمیلوئید بتا توسط آنزیم‌های خانواده سكرتاز تشکیل می‌شود [۴]. استیل کولین از جمله نورو-ترانسمیترهای مغز می‌باشد که به‌وسیله آنزیم استیل کولین استراز مهار می‌شود.

^۱ کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران

^۲ استاد، مرکز تحقیقات پروتئومیکس، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تهران

^۳ استاد، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

* نشانی نویسنده مسئول:

مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

تلفن: ۰۹۱۳۳۶۱۲۹۲۰ دورنویس: ۰۳۱۵۵۶۲۱۱۵۷

پست الکترونیک: salami-m@kaums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۱/۲۷ تاریخ پذیرش نهایی: ۹۵/۵/۱۳

کردن، ۲۵۰ گرم از پودر خشک شده گیاه درون یک لیتر آب مقطر قرار گرفت. لازم به ذکر است که آب باید از قبل جوشانده شده باشد و دمای آن نزدیک نقطه جوش باشد. سپس، درب ظرف محتوی مخلوط آب و گیاه به طور کامل بسته شد و بعد از ۴ ساعت محتوی ظرف با استفاده از فیلتر صاف شد. مایع به دست آمده روی بن ماری قرار داده شد تا آب آن بخار شده و یک ماده قیر مانند به دست آمد. سپس، با استفاده از فریز درایر عصاره به پودر تبدیل شد [۱۷].

الکتروفیزیولوژی

الف- بی‌هوشی، جراحی و آماده سازی حیوانات برای آزمایش برای شروع آزمایش‌ها با تزریق داخل بطنی داروی اورتان (۱/۵ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) ابتدا حیوانات بی‌هوش شدند. برای اطمینان از بی‌هوشی کامل حیوانات هر دو رفلکس تحریک قرنیه چشم با جسم نوک تیز و تحریک دردناک کف پنجه پا کنترل شدند. سپس، حیوان به دستگاه استرنوتاکس (USA Stoelting) منتقل شد و پس از ثابت کردن کامل سر حیوان لیدوکائین تزریق شد تا بی‌حسی موضعی نیز ایجاد شود و هم‌چنین اندکی فاصله بین پوست سر و استخوان جمجمه ایجاد شده و برش دادن پوست سر آسان‌تر شود. با استفاده از یک پیچی نوک‌تیز پوست سر از ناحیه پشت گردن حیوان تا بالای بینی بریده شد و به آرامی سایر بافت‌ها کاملاً کنار زده شد تا کمترین آسیب به جمجمه برسد و از خونریزی جلوگیری شود.

ب- تعیین محل الکترودها

پس از تعیین نواحی برگما، لامبدا و خط وسط روی جمجمه محل قرارگیری الکترودها به وسیله اطلس پاکسینوس و واتسون مشخص شد [۱۸]. الکترود تحریکی ۴/۲ میلی‌متر پشت برگما و ۳/۸ میلی‌متر در جهت جانبی خط وسط قرار گرفت. در نقطه‌ای که ۳/۴ میلی‌متر پشت برگما و ۲/۵ میلی‌متر جانبی تراز خط وسط بود محل الکترود ثبات علامت گذاری گردید. سپس، با دقت و توسط یک دریل دندانپزشکی محل‌های علامت گذاری و سوراخ شد؛ به طوری که به سخت‌شامه و بافت مغز آسیب وارد نشود. در نهایت به آرامی و توسط یک سوزن بسیار ظریف سخت-شامه جهت امکان عبور کاتود و الکترودها پاره شد.

ج- الکترود گذاری

الکترودها هر دو دوقطبی و از جنس استیل زنگ زن با پوشش تفلون بودند. برای تهیه آنها ابتدا حدود ۸ سانتی‌متر از سیم استیل زنگ زن که قطر آن ۰/۰۰۵ اینچ بود و با پوشش تفلونی به

برای مقاصد درمانی مورد استفاده قرار می‌گیرند. اثرات ضد افسردگی، ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌استیل کولین استرازی از جمله اثرات درمانی اسطوخدوس می‌باشد [۱۳، ۱۴]. در مطالعه قبلی نشان دادیم که دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره آبی اسطوخدوس سبب بهبود حافظه فضایی در موش‌های صحرایی آرزایمری می‌شود [۱۵]. هم‌چنین، نشان دادیم که این دوز عصاره آبی اسطوخدوس سبب پاک‌سازی پلاک‌های آمیلوئیدی از هیپوکامپ موش‌های صحرایی آرزایمری می‌شود [۱۶]. در این مطالعه قصد داریم تا اثر همین دوز اسطوخدوس را بر القاء LTP به عنوان مکانیسم احتمالی حافظه و یادگیری در مدل حیوانی آرزایمری ناشی از تزریق بتا آمیلوئید مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش‌ها

حیوانات

در این مطالعه تجربی از ۲۸ سر موش صحرایی نر نژاد Wistar استفاده شد. در هر قفس ۴ سر حیوان همراه با آب و غذای کافی نگهداری می‌شدند. درجه حرارت محل نگهداری ۲۲±۲ سانتی‌گراد و رطوبت محیط ۵±۵۵ درصد بود و از نظر شرایط نوری حیوانات در ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی نگهداری می‌شدند. حیوانات به ۳ گروه ۸ تایی شامل گروه کنترل (CO)، گروه آرزایمری دریافت‌کننده نرمال سالین (AD) و گروه آرزایمری دریافت‌کننده عصاره اسطوخدوس (AE) تقسیم‌بندی شدند.

القای آرزایمر

القای آرزایمر با استفاده از تزریق ۱ میکروگرم آمیلوئید بتا ۱-۴۲ (خریداری شده از شرکت سیگما-آمریکا) محلول در ۲ میکرولیتر آب مقطر به صورت تزریق درون بطن مغز صورت گرفت. جهت اطمینان از القای آرزایمر بعد از ۲۰ روز مغز ۲ حیوان از هر دو گروه آرزایمری جدا شده و تشکیل آمیلوئید بتا با استفاده از رنگ آمیزی مخصوص پلاک (روش Red Congo) تایید شد.

عصاره‌گیری

گیاه اسطوخدوس از پژوهشکده گیاهان دارویی دانشگاه شهید بهشتی با کد هرباریوم ۱۰۹۲ تهیه شد و عصاره آبی سرشاخه‌های گیاه تهیه شد. عصاره گیاه با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن موش در ۱ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و به صورت درون صفاقی و طی ۲۰ روز متوالی تزریق گردید. برای تهیه عصاره، بعد از جداکردن سرشاخه‌های گیاه، شستن آنها و خشک

ناحیه CA1 هیپوکامپ قرار گرفت. پتانسیل‌های پس‌سیناپسی تحریکی میدانی Field Excitatory Post Synaptic Potentials (fEPSP) به صورت دو قطبی و به شکل یک دره از محل مورد نظر ثبت شد. سپس، توسط یک آمپلی فایر پاسخ‌ها را در محدوده ۳۰۰۰-۱ هرتز فیلتر شد و به میزان ۵۰۰۰ برابر تقویت صورت گرفت. این پاسخ‌ها از طریق برد مبدل آنالوگ به دیجیتال (AD Instruments, Australia)، عددی شدند و توسط نرم-افزار روی نمایشگر رایانه نمایان شد و در حافظه ذخیره گردید. علت اینکه پتانسیل‌های پس‌سیناپسی تحریکی میدانی ثبت‌های ما به صورت دره ظاهر شده است، این بود که محل قرارگیری الکتروود ثبات طوری انتخاب شده بود که در محل Sink یا محل ورود یون‌های مثبت به درون دندریت نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ قرار گیرد.

و- روش القای LTP

برای القای LTP در مدار نورونی مورد آزمایش تحریک تتانیک با فرکانس بالا (High Frequency Stimulation: HFS) اعمال شد. الگوی این تحریک شامل ۱۰ قطار با فرکانس ۱۰۰ هرتز و فاصله ۲ هزارم ثانیه بود. مدت زمان هر پالس تحریکی نیز ۰/۱ هزارم ثانیه بود. پس از تحریک تتانیک روند تحریک و ثبت به مدت ۱ ساعت ادامه یافت.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

اساس تجزیه و تحلیل داده‌ها مقایسه پتانسیل‌های پس-سیناپسی تحریکی میدانی (fEPSP) ثبت شده از محل دندریت نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ در پاسخ به تحریکات وارده به کولترال‌های شافر نورون‌های ناحیه CA3 هیپوکامپ، قبل و بعد از تزریق دارو و هم‌چنین قبل و بعد از القای LTP بود. برای تجزیه و تحلیل نتایج حاصل از ثبت‌های صورت گرفته، توسط نرم‌افزار Scope for Windows ابتدا ثبت‌های میانگین از مجموع ثبت‌های قطعات متوالی ۵ دقیقه‌ای (۱۰ ثبت با فاصله ۳۰ ثانیه) به دست آمد. سپس، داده‌های استخراج شده توسط نرم‌افزار Excel مرتب شده و درصد تغییرات دامنه، تاخیر و دوره پاسخ‌ها طبق فرمول محاسبه شدند. مقایسه میانگین داده‌ها در گروه‌های مستقل از هم برای مراحل قبل و بعد از تحریک تزریق دارو یا قبل و بعد از تحریک تتانیک با آزمون آنالیز واریانس دوطرفه به همراه پس-آزمون Tukey انجام گرفت. برای انجام آزمون‌های آماری نرم‌افزار SPSS for Windows-14 مورد استفاده واقع گردید. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شد.

ضخامت ۰/۰۰۳ اینچ عایق گردیده بود، بریده شد. سپس، از وسط تا شده و از دو انتها و با واسطه سوزن‌گیر به آرامی دور هم پیچیده شد تا ساختار کاملاً یکنواخت و یک‌دست پیدا کند. در نهایت، پوشش تفلون با استفاده از یک تیغ جراحی از دو سر سیم‌ها زدوده شد و سرها به سوکت مخابراتی لحیم شدند. الکتروود تحریکی ۲/۸ میلی‌متر از سطح سخت‌شامه پائین برده شد تا به کولترال‌های شافر نورون‌های ناحیه CA3 هیپوکامپ برسد. الکتروود ثبات نیز با فواصل ۱۰ میکرونی و با دقت حدود ۲/۵ میلی‌متر زیر سخت‌شامه برده شد تا به دندریت نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکامپ برسد. بر اساس شواهد الکتروفیزیولوژیکی صحت مکان الکتروودها تایید گردید.

د- روش تحریک مدار

الکتروود تحریکی در محل کولترال‌های شافر نورون‌های ناحیه CA3 هیپوکامپ قرار گرفت. برای تحریک از یک دستگاه مولد جریان ثابت (WSI, A3308, Iran) که می‌توانست تحریکات دوقطبی به مدار وارد کند، استفاده شد. مشخصات پالس‌های تحریکی عبارت بودند از: پالس مربعی شکل با فرکانس ۱۰۰ میلیونیوم ثانیه و با تاخیر ۲ هزارم ثانیه. پس از استقرار الکتروودها در حوالی محل تعیین شده با اعمال تحریک الکتریکی به مدار و با جابه‌جا کردن بسیار آرام و دقیق الکتروودها محل صحیح مدار تعیین گردید. این تحریکات به مدت ۳۰ دقیقه به مدار وارد شد تا پاسخ‌های مدار در برابر یک تحریک ثابت، یکنواخت و ثابت شود و اندازه دامنه پاسخ‌ها تغییر نکند. بعد از این مرحله نوبت به رسم منحنی Input-Output رسید. برای رسم منحنی ابتدا پس از تعیین شدت تحریک آستانه مدار، اندازه تحریک با فواصل ۱۰ میکروآمپری زیاد شد و باز پاسخ مدار ثبت گردید. این افزایش شدت تحریک تا جایی ادامه یافت که دیگر با افزایش شدت در برابر شدت جریان تحریکی افزایشی در دامنه پاسخ ایجاد نشود. جهت ادامه روند آزمایش نیز شدتی از تحریک که در آن ۶۰ درصد بیشترین دامنه پاسخ مدار به دست می‌آمد، انتخاب شد. پس از انتخاب شدت جریان مناسب برای تحریک مدار، یک ثبت پایه به مدت ۳۰ دقیقه از مدار توسط نرم‌افزار Scope for Windows صورت گرفت. نحوه ثبت پاسخ‌ها در تمامی مراحل آزمایش توسط نرم‌افزار مذکور بدین صورت بود که هر ۳۰ ثانیه یکبار یک پالس تحریکی با مشخصات ذکر شده به مدار وارد می‌شد و پاسخ مدار ثبت می‌گردید.

ه- روش ثبت پاسخ‌های مدار

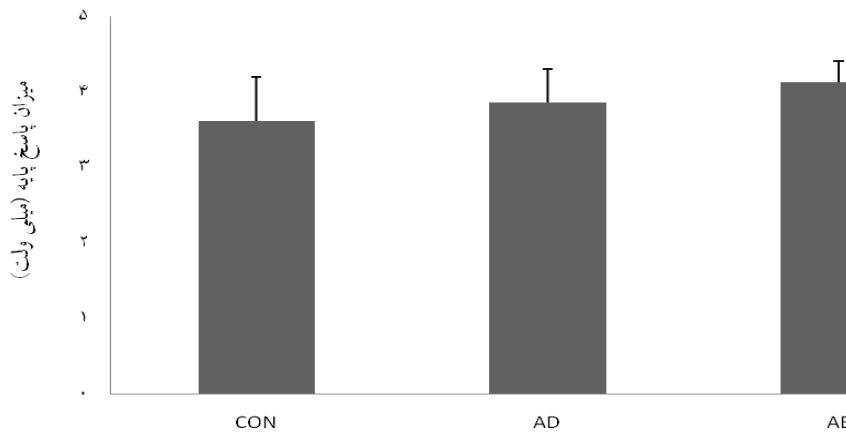
الکتروود دوقطبی در محل حضور دندریت نورون‌های

از هیپوکامپ حیوانات نداشته است؛ به طوری که پاسخ گروه‌های کنترل (CO) و آلزایمری (AD) و آلزایمری دریافت کننده اسطوخدوس (AE) به ترتیب $3/858 \pm 0/44$ ، $3/611 \pm 0/581$ و $4/119 \pm 0/285$ میلی‌ولت به دست آمد (شکل شماره ۱).

نتایج

ثبت پاسخ پایه ناحیه CA1 هیپوکامپ

قبل از اعمال تحریک تتانیک، پاسخ پایه هر سه گروه ثبت شد. نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان می‌دهد که تزریق آمیلوئید بتا درون بطن مغز حیوانات اثری بر پاسخ پایه ثبت شده



شکل شماره ۱- میزان پاسخ پایه ثبت شده از مسیر CA1 هیپوکامپ موش‌های صحرایی گروه کنترل دریافت کننده آب مقطر (CO)، گروه آلزایمری دریافت کننده آب مقطر (AD) و گروه آلزایمری دریافت کننده عصاره آبی اسطوخدوس (AE) که تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها وجود ندارد ($n=8$).

گرفته در میزان پاسخ پس از اعمال تحریک تتانیک در گروه CO به طور قابل توجهی بیشتر از گروه AD است ($P < 0/001$).

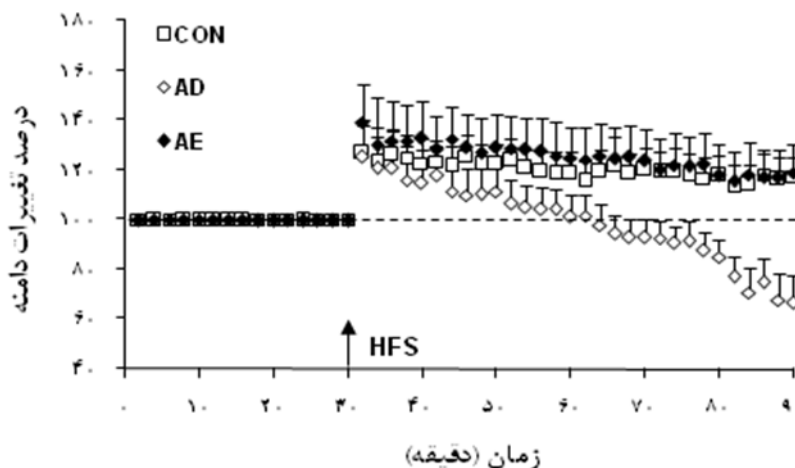
القاء LTP در ناحیه CA1 هیپوکامپ
گروه کنترل

تحریک تتانیک اعمال شده بعد از ثبت پاسخ پایه سبب القاء LTP در حیوانات گروه CO شد. میانگین دامنه پاسخ ثبت شده از حیوانات این گروه بعد از تحریک تتانیک از $3/611 \pm 0/581$ به $4/447 \pm 0/42$ میلی‌ولت تغییر کرد که افزایش ۲۰ درصدی میزان پاسخ را نشان می‌دهد ($P < 0/001$). سطح LTP ناشی از تحریک تتانیک طی مدت زمان ثبت fEPSP روند ثابتی را داشت.

گروه آلزایمری دریافت کننده عصاره اسطوخدوس (AE) بعد از اعمال HFS مشخص شد که تزریق عصاره اسطوخدوس سبب القاء LTP در حیوانات گروه AE شده است. میانگین دامنه تغییرات در این گروه قبل و بعد از تحریک تتانیک به ترتیب $4/199 \pm 0/28$ و $5/257 \pm 0/35$ میلی‌ولت می‌باشد که افزایش ۲۵ درصد را نشان می‌دهد. افزایش میزان پاسخ بعد از اعمال تحریک تتانیک تفاوت معنی‌داری را نسبت به قبل از آن نشان می‌دهد ($P < 0/001$). میانگین دامنه تغییرات ثبت شده بعد از اعمال تحریک تتانیک بین دو گروه AD و AE نیز تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد ($P < 0/001$) (شکل شماره ۲). هم-چنین، مقایسه پاسخ fEPSP ثبت شده بین دو گروه CO و AE نشان می‌دهد که اسطوخدوس موجب بهبودی القاء LTP می‌شود؛ به طوری که سطح تقویت درازمدت در گروه AE به گروه CO رسیده است.

گروه آلزایمر (AD)

تحریک تتانیک برای بررسی میزان القاء LTP در حیوانات گروه AD نیز انجام شد. میانگین دامنه پاسخ در حیوانات این گروه قبل و بعد از تحریک تتانیک به ترتیب $3/858 \pm 0/44$ و $3/901 \pm 0/341$ میلی‌ولت می‌باشد. تغییر میزان پاسخ از نظر آماری معنی‌دار نیست ($P < 0/841$). به علاوه، بعد از گذشت حدود ۳۰ دقیقه دامنه پاسخ‌های ثبت شده به پاسخ پایه نزدیک شد و روند کاهشی آن تا پایان آزمایش ادامه داشت. مقایسه القاء LTP در حیوانات گروه CO و AD نشان‌گر آن است که تقویت صورت



شکل شماره ۲- میزان تغییرات پاسخ ثبت شده از هیپوکامپ موش‌های صحرایی بعد از اعمال تحریک تتانیک. اعمال تحریک تتانیک در حیوانات گروه کنترل دریافت کننده آب مقطر (CO) سبب القاء LTP در حیوانات این گروه شد ($P < 0.0001$), درحالی که در حیوانات آرایمیری دریافت کننده آب مقطر (AD) القاء LTP با ثبات همراه نبود ($P < 0.041$). تزریق عصاره آبی اسطوخدوس سبب القاء در حیوانات گروه آرایمیری دریافت کننده اسطوخدوس (AE) گردید ($P < 0.0001$) ($n=8$).

بحث

یادگیری و حافظه می‌باشد. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد اثر مهاری آمیلوئید بتا بر یادگیری و حافظه ناشی از ایجاد اختلال در سیستم کولینرژیک می‌باشد. نشان داده شده است که آمیلوئید بتا سبب مهار سنتز و یا آزاد سازی استیل کولین می‌شود [۲۲]. هم چنین، آمیلوئید بتا سبب بلاک شدن گیرنده‌های استیل کولین می‌شود. فعالیت زیاد آنزیم استیل کولین استراز نیز از دیگر عوامل کاهش میزان استیل کولین می‌باشد [۲۳]. اسطوخدوس با اعمال اثر مهاری بر آنزیم استیل کولین استراز سبب افزایش میزان و فعالیت آنزیم استیل کولین در مغز می‌شود. اسطوخدوس از طریق این مکانیسم می‌تواند سبب بهبود علائم بیماری آرایمیر از جمله القاء LTP و ممانعت از پیشرفت بیماری شود [۲۴]. نشان داده شده است که آمیلوئید بتا سبب افزایش میزان گلوتامات می‌شود. این امر از طریق اختلال در سیستم جمع‌آوری گلوتامات و یا اختلال در ترشح آن صورت می‌پذیرد. افزایش بیش از اندازه گلوتامات سبب درگیر شدن گیرنده‌های NMDA و در نهایت فعال شده فرآیند سمیت سلولی وابسته به گلوتامات می‌شود [۲۵]. هم چنین، نشان داده شده است که افزایش بیش از اندازه گلوتامات سبب آسیب نورونی می‌شود. به علاوه، افزایش میزان گلوتامات در محل سیناپس‌ها و نقص در مراحل سنتز و آزادسازی گلوتامات در بیماران آرایمیری به اثبات رسیده است [۲۶]. بیان شده است که عصاره آبی اسطوخدوس سبب کاهش سمیت سلولی وابسته به گلوتامات در سلول‌های کشت داده شده مخچه می‌شود [۲۷]. التهاب نورونی از دیگر اثرات آمیلوئید بتا و از عوامل کلیدی در

آرایمیر از جمله بیماری‌های نورودژنراتیو می‌باشد که سیستم عصبی را دچار اختلال می‌کند. نقص در یادگیری و حافظه از جمله مهم‌ترین علائم این بیماری است [۱۹]. در مطالعه حاضر اثر عصاره آبی اسطوخدوس بر القاء LTP در مسیر CA1-CA3 هیپوکامپ که یکی از مسیرهای مهم در فرآیند تثبیت حافظه می‌باشد مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که تزریق درون بطن مغزی آمیلوئید بتا اثر معنی‌داری بر پاسخ پایه ثبت شده از این مسیر نداشته است؛ به طوری که میزان پاسخ ثبت شده از دو گروه CO و AD تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهند. مطالعات زیادی اثر آمیلوئید بتا بر مهار القاء LTP در ناحیه CA1 هیپوکامپ را اثبات کرده‌اند. هم چنین، نشان داده شده است که تزریق آمیلوئید بتا درون بطن مغز موش‌های صحرایی هیچ اثری بر میزان پاسخ پایه ثبت شده ندارد [۲۱، ۲۰]. تحریک تتانیک اعمال شده سبب القاء LTP و افزایش میزان پاسخ در هیپوکامپ موش‌های صحرایی گروه CO شد، درحالی که بر حیوانات AD اثری نداشت. این امر نشان می‌دهد که آمیلوئید بتا مانع از القاء LTP در هیپوکامپ موش‌های صحرایی می‌شود. تزریق عصاره اسطوخدوس به حیوانات آرایمیری سبب بهبود روند پاسخ ثبت شده از حیوانات گروه AE شده و LTP در حیوانات این گروه القاء گردید. تزریق آمیلوئید بتا درون بطن مغز حیوانات علاوه بر ممانعت از القاء LTP سبب اختلال در یادگیری و حافظه حیوانات می‌شود [۲۱]. استیل کولین از جمله نوروترانسمیترهای حیاطی در فرآیند

میزان LTP القاء شده در حیوانات آزرایمیری شده با بتا آمیلوئید گردید. با توجه به مطالعات قبلی در خصوص اثر بهبود دهنده عصاره آبی اسطوخدوس روی حافظه موش‌های صحرائی مدل آزرایمیری و حذف پلاک‌های آمیلوئیدی می‌توان نتیجه گرفت که حداقل بخشی از اثر این عصاره روی پدیده‌های شناختی می‌تواند ناشی از عملکرد آن در سطح پاسخ‌های نورونی باشد.

تشکر قدردانی

این مقاله با حمایت مالی کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی (طرح شماره ۳۸۶۲۰/ص/ ۱۳۹۴ مورخ ۹۴/۱۱/۲۴) انجام شده است. نویسندگان مقاله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کاشان، جناب آقای دکتر غلامعلی حمیدی، و آقای دکتر سید علیرضا طلایی به- خاطر همکاری در اجرای این طرح کمال تشکر و قدردانی را دارند.

References:

- [1] Zhou J, Liu B. Alzheimer's disease and prion protein. *Intractable Rare Dis Res* 2013; 2(2): 35-44.
- [2] Danysz W, Parsons CG. Alzheimer's disease, beta-amyloid, glutamate, NMDA receptors and memantine--searching for the connections. *Br J Pharmacol* 2012; 167(2): 324-52.
- [3] Singh S, Kushwah AS, Singh R, Farswan M, Kaur R. Current therapeutic strategy in Alzheimer's disease. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2012; 16(12): 1651-64.
- [4] Takasugi N, Sasaki T, Shinohara M, Iwatsubo T, Tomita T. Synthetic ceramide analogues increase amyloid-beta 42 production by modulating gamma-secretase activity. *Biochem Biophys Res Commun* 2015; 457(2): 194-9.
- [5] He YX, Wu MN, Zhang H, Qi JS. Amyloid beta-protein suppressed nicotinic acetylcholine receptor-mediated currents in acutely isolated rat hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Synapse* 2013; 67(1): 11-20.
- [6] Maatuk N, Samson AO. Modeling the binding mechanism of Alzheimer's A β 1-42 to nicotinic acetylcholine receptors based on similarity with snake α -neurotoxins. *Neurotoxicology* 2013; 34: 236-42.
- [7] Hoppe JB, Frozza RL, Horn AP, Comiran RA, Bernardi A, Campos MM, et al. Amyloid-beta neurotoxicity in organotypic culture is attenuated by melatonin: involvement of GSK-3beta, tau and neuroinflammation. *J Pineal Res* 2010; 48(3): 230-8.
- [8] Piermartiri TC, Figueiredo CP, Rial D, Duarte FS, Bezerra SC, Mancini G, et al. Atorvastatin

فرآیند پیشرفت آزرایمیری می‌باشد. آمیلوئید بتا سبب آزاد شدن عوامل پیش‌تهابی از سلول‌های میکروگلیا در مغز می‌شود. دانشمندان زیادی نقش تزریق آمیلوئید بتا درون بطن مغز حیوانات را بر آزاد شدن عوامل تهابی و نقش آن در التهاب بافت مغز بیماران آزرایمیری اثبات کرده‌اند. اسطوخدوس از جمله گیاهان دارویی می‌باشد که می‌تواند سبب بهبود التهاب شود [۲۸-۳۰]. اعمال نقش ضد تهابی یکی دیگر از خواص این گیاه می‌باشد که می‌تواند اسطوخدوس را به‌عنوان یکی از عوامل درمانی و از علل بهبود علائم آزرایمیری به‌شمار آورد [۳۱-۳۳]. اینکه اسطوخدوس از طریق کدامیک از مکانیسم‌های آورده شده در بالا سبب بهبود LTP در موش‌های صحرائی کنترل و آزرایمیری می‌شود، نیاز به آزمایشات بیشتری دارد.

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر عصاره اسطوخدوس موجب افزایش

- prevents hippocampal cell death, neuroinflammation and oxidative stress following amyloid-beta (1-40) administration in mice: evidence for dissociation between cognitive deficits and neuronal damage. *Exp Neurol* 2010; 226(2): 274-84.
- [9] Gulbrandsen TL, Sparks FT, Sutherland RJ. Interfering with post-learning hippocampal activity does not affect long-term consolidation of a context fear memory outside the hippocampus. *Behav Brain Res* 2013; 240: 103-9.
 - [10] Pan YW, Storm DR, Xia Z. The Maintenance of Established Remote Contextual Fear Memory Requires ERK5 MAP Kinase and Ongoing Adult Neurogenesis in the Hippocampus. *PLoS One* 2012; 7(11): e50455.
 - [11] Jo J, Whitcomb DJ, Olsen KM, Kerrigan TL, Lo SC, Bru-Mercier G, et al. Abeta(1-42) inhibition of LTP is mediated by a signaling pathway involving caspase-3, Akt1 and GSK-3beta. *Nat Neurosci* 2011; 14(5): 545-7.
 - [12] Origlia N, Capsoni S, Cattaneo A, Fang F, Arancio O, Yan SD, et al. Abeta-dependent Inhibition of LTP in different intracortical circuits of the visual cortex: the role of RAGE. *J Alzheimers Dis*. 2009; 17(1): 59-68.
 - [13] Huang MY, Liao MH, Wang YK, Huang YS, Wen HC. Effect of lavender essential oil on LPS-stimulated inflammation. *Am J Chin Med* 2012; 40(4): 845-59.
 - [14] Kim Y, Kim M, Kim H, Kim K. Effect of lavender oil on motor function and dopamine receptor expression in the olfactory bulb of mice. *J Ethnopharmacol* 2009; 125(1): 31-5.

- [15] Kashani MS, Tavirani MR, Talaei SA, Salami M. Aqueous extract of lavender (*Lavandula angustifolia*) improves the spatial performance of a rat model of Alzheimer's disease. *Neurosci Bull* 2011; 27(2): 99-106.
- [16] Soheili M, Tavirani MR, Salami M. Clearance of Amyloid Beta Plaques from Brain of Alzheimeric Rats by *Lavandula angustifolia*. *Neurosci Med* 2012; 3(4):6.
- [17] Soheili M, Salami M, Haghiri A, Zali H, Rezaei Tavirani M. Aqueous Extract of *Lavandula Angustifolia* Alter Protein Expression in Alzheimer Rats. *J Rep Pharm Sci* 2014; 3(1): 9.
- [18] Paxinos G, Watson C. The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates - The New Coronal Set: Elsevier Science; 2004.
- [19] Philippi N, Noblet V, Botzung A, Despres O, Renard F, Sfikas G, et al. MRI-Based Volumetry Correlates of Autobiographical Memory in Alzheimer's Disease. *PLoS One* 2012; 7(10): e46200.
- [20] Vargas LM, Leal N, Estrada LD, Gonzalez A, Serrano F, Araya K, et al. EphA4 activation of c-Abl mediates synaptic loss and LTP blockade caused by amyloid-beta oligomers. *PLoS One* 2014; 9(3): e92309.
- [21] Barry AE, Klyubin I, Mc Donald JM, Mably AJ, Farrell MA, Scott M, et al. Alzheimer's disease brain-derived amyloid-beta-mediated inhibition of LTP in vivo is prevented by immunotargeting cellular prion protein. *J Neurosci* 2011; 31(20): 725.
- [22] Ni R, Marutle A, Nordberg A. Modulation of alpha7 Nicotinic Acetylcholine Receptor and Fibrillar Amyloid-beta Interactions in Alzheimer's Disease Brain. *J Alzheimers Dis* 2013; 33(3): 841-51.
- [23] Tomas M, Garcia N, Santafe MM, Lanuza M, Tomas J. Protein kinase C involvement in the acetylcholine release reduction induced by amyloid-beta(25-35) aggregates on neuromuscular synapses. *J Alzheimers Dis* 2009; 18(4): 877-84.
- [24] Hritcu L, Cioanca O, Hancianu M. Effects of lavender oil inhalation on improving scopolamine-induced spatial memory impairment in laboratory rats. *Phytomedicine* 2012; 19(6): 529-34.
- [25] Matos M, Augusto E, Machado NJ, dos Santos-Rodrigues A, Cunha RA, Agostinho P. Astrocytic adenosine A2A receptors control the amyloid-beta peptide-induced decrease of glutamate uptake. *J Alzheimers Dis* 2012; 31(3): 555-67.
- [26] Alberdi E, Sanchez-Gomez MV, Cavaliere F, Perez-Samartin A, Zugaza JL, Trullas R, et al. Amyloid beta oligomers induce Ca²⁺ dysregulation and neuronal death through activation of ionotropic glutamate receptors. *Cell Calcium* 2010; 47(3): 264-72.
- [27] Lin PW, Chan WC, Ng BF, Lam LC. Efficacy of aromatherapy (*Lavandula angustifolia*) as an intervention for agitated behaviours in Chinese older persons with dementia :a cross-over randomized trial. *Int J Geriatr Psychiatry* 2007; 22(5): 405-10.
- [28] Perez Nieves BG, Hammerschmidt T, Kummer MP, Terwel D, Leza JC, Heneka MT. Restraint stress increases neuroinflammation independently of amyloid beta levels in amyloid precursor protein/PS1 transgenic mice. *J Neurochem* 2011; 116(1): 43-52.
- [29] He FQ, Qiu BY, Zhang XH, Li TK, Xie Q, Cui DJ, et al. Tetrandrine attenuates spatial memory impairment and hippocampal neuroinflammation via inhibiting NF-kappaB activation in a rat model of Alzheimer's disease induced by amyloid-beta(1-42). *Brain Res* 2011; 1384: 89-96.
- [30] Fakhfour G, Ahmadiani A, Rahimian R, Grolla AA, Moradi F, Haeri A. WIN55212-2 attenuates amyloid-beta-induced neuroinflammation in rats through activation of cannabinoid receptors and PPAR-gamma pathway. *Neuropharmacology* 2012; 63(4): 653-66.
- [31] Chen HQ, Jin ZY, Wang XJ, Xu XM, Deng L, Zhao JW. Luteolin protects dopaminergic neurons from inflammation-induced injury through inhibition of microglial activation. *Neurosci Lett* 2008; 448(2): 175-9.
- [32] Hajhashemi V, Ghannadi A, Sharif B. Anti-inflammatory and analgesic properties of the leaf extracts and essential oil of *Lavandula angustifolia* Mill. *J Ethnopharmacol* 2003; 89(1): 67-71.
- [33] Perry NS, Bollen C, Perry EK, Ballard C. *Salvia* for dementia therapy: review of pharmacological activity and pilot tolerability clinical trial. *Pharmacol Biochem Behav* 2003; 75(3): 651-9.