

The effect of alcoholic extract of *Panicum miliaceum* L. seed on hippocampus neuronal density in male mouse

Bornarodi A, Tehranipour M*, Mahdavi-Shahri N

Department of Biology, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, I. R. Iran.

Received May 1, 2017; Accepted August 15, 2017

Abstract:

Background: Hippocampus organization is a part of temporal lobe, which consists of several sections including hippocampal body, dentate gyrus and subiculum. *Panicum miliaceum* L. contains proteins, vitamins and antioxidants for human health. This study was conducted to examine the effect of the alcoholic extract of the seed of *Panicum miliaceum* L. plant on hippocampus neuronal density.

Materials and Methods: In this experimental study, 24 male mice were divided into 4 groups (n=6, each group). The alcoholic extract of the seed of the *Panicum miliaceum* L. plant was prepared by soxhlet extraction. Three doses of the extract 25, 50, 75 mg/kg were intraperitoneally injected to 3 treatment groups for 21 days and the control group received normal saline injection. At the end of the experiment, the animals were anesthetized and after perfusion, their brains were removed from the skull. After tissue processing, slices of the brain were prepared and stained. Then, different regions of the hippocampus were photographed and neuronal densities were evaluated.

Results: Results showed that the neuronal density in the CA1, CA3 regions of the group treated with 50 mg/kg of the alcoholic extract and in all regions of hippocampus (CA1, CA2, CA3) in groups treated with dose of 75 mg/kg of the alcoholic extract had a significant increase compared to the control group ($P<0.05$).

Conclusion: The present study shows that the alcoholic extract of the seed of *Panicum miliaceum* L. plant increases neuronal density and induces neurogenesis in the mouse hippocampus.

Keywords: *Panicum miliaceum*, Alcoholic extract, Neuronal density, Hippocampus

* Corresponding Author.

Email: maryam_tehranipour@mshdiau.ac.ir

Tel: 0098 915 511 0370

Fax: 0098 51 384 35050

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, October, 2017; Vol. 21, No 4, Pages 335-344

Please cite this article as: Bornarodi A, Tehranipour M, Mahdavi-Shahri N. The effect of alcoholic extract of *Panicum miliaceum* L. seed on hippocampus neuronal density in male mouse. *Feyz* 2017; 21(4): 335-44.

بررسی اثر عصاره الکلی دانه ارزن پروسو (*Panicum miliaceum* L.) بر تراکم نورونی ناحیه هیپوکامپ موش سوری

آرزو برنای رودی^۱ ، مریم طهرانی پور^۲ ، ناصر مهدوی شهری^۳

خلاصه:

سابقه و هدف: تشکیلات هیپوکامپ بخشی از لوب گیجگاهی را به خود اختصاص می‌دهد و خود از این بخش‌ها تشکیل شده است: جسم هیپوکامپ، شکنج دندانه‌ای و سوییکولوم. گیاه ارزن حاوی پروتئین‌ها، مواد معدنی، ویتامین‌ها و آنتی‌اکسیدان‌های مورد نیاز برای حفظ حیات و سلامت سلول‌های بدن پستانداران است. این مطالعه به منظور تعیین اثر عصاره الکلی دانه گیاه ارزن پروسو (*Panicum miliaceum* L.) بر تراکم نورونی ناحیه هیپوکامپ انجام شده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۲۴ سر موش سوری به ۴ گروه تقسیم شدند. عصاره الکلی دانه گیاه ارزن پروسو به روش سوکسله تهیه شده و به سه گروه تیمار بدتریب با دوزهای ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به روش داخل صفاتی و به مدت ۲۱ روز تزریق شد. گروه کنترل نرمال سالین دریافت نمود. در پایان مطالعه حیوانات بیهوش شده و پس از پرفیوژن، مغز از چشمچه خارج گردید. بعد از انجام مراحل پاساژ بافی از مغز برداشته شده و رنگ‌آمیزی شد. سپس، تراکم نورونی نواحی مختلف هیپوکامپ بررسی شد.

نتایج: نتایج نشان داد که تراکم نورونی در نواحی CA1 و CA3 گروه تیمار شده با دوز ۵۰ mg/Kg و در تمام نواحی هیپوکامپ (CA1, CA2, CA3) گروه تیمار شده با دوز ۷۵ mg/Kg افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشته است. ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که عصاره الکلی دانه گیاه ارزن پروسو باعث افزایش تراکم نورونی و القای نورون‌زاویی در هیپوکامپ موش سوری می‌گردد.

واژگان کلیدی: ارزن پروسو، عصاره الکلی، تراکم نورونی، هیپوکامپ

دو ماهنامه علمی- پژوهشی فیض، دوره بیست و یکم، شماره ۴ مهر و آبان ۱۳۹۶، صفحات ۳۴۴-۳۳۵

جسم هیپوکامپ و شکنج دندانه‌ای بخشی از آركتوکورتکس است و سوییکولوم بخش انتقالی کورتکس را در بر می‌گیرد، یعنی حد وسط بین آركتوکورتکس و نئوکورتکس است. هیپوکامپ بخشی از سیستم لیمبیک است که در مکانیسم ثبت حافظه شرکت می‌کند. هیپوکامپ از قاعده مغز جلویی و سپتوم، آوران‌های کولینرژیک دریافت می‌کند که در روند حافظه و یادگیری نقش مهمی دارند [۳]. مغز قادر به تولید سلول‌های جدید از طریق نورون‌زاویی در دوران پس از بلوغ است [۴]. تا حدود ۲۰ سال پیش اعتقاد بر این بود که مغز انسان قادر به تولید سلول‌های جدید مغزی پس از بلوغ نیست، اما دانشمندان در حال حاضر به این واقعیت رسیده‌اند که مغز انسان می‌تواند نورون‌زاویی داشته باشد [۴]. نورون‌زاویی به این معنی است که سلول‌های عصبی جدید حتی در بزرگسالی متولد می‌شوند و این فرآیند را می‌توان همراه با برخی تغییرات در رژیم غذایی و شیوه زندگی بهبود بخشید. دو منطقه خاص در مغز، سابونتریکولار و هیپوکامپ، شواهد نورون‌زاویی پس از بلوغ را نشان می‌دهند [۵]. جنس ارزن (*Panicum miliaceum* L.) جزء غلات دانه- ریز محسوب می‌شود و به خانواده گندمیان (Poaceae) تعلق دارد. ارزن معمولی یا ارزن پروسو با نام علمی (*Panicum miliaceum* L.) برای تولید علوفه و دانه کشت می‌شود. و

مقدمه

هیپوکامپ بخشی از سیستم لیمبیک بوده که به علت ساختار نعل اسپی شکل آن بدین نام نامیده شده و دارای بخش‌های CA1، CA2، CA3، سوییکولوم و شکنج دندانه‌ای است که ارتباطات متعدد اما به طور عدمه غیرمستقیم با بیشتر بخش‌های قشر مغز و نیز با عقده‌های قاعده‌ای سیستم لیمبیک یعنی آمیگدال، هیپوتالاموس، سپتوم و اجسام پستانی دارد. هرگونه تجربه حسی باعث فعال شدن قسمت‌های مختلف هیپوکامپ می‌گردد [۲، ۱]. این تشکیلات بخشی از لوب گیجگاهی را به خود اختصاص می‌دهد.

^۱ کارشناس ارشد زیست‌شناسی فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

^۲ دانشیار، گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

^۳ استاد، گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

* **لشان نویسنده مسئول:**

دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، گروه زیست‌شناسی

تلفن: ۰۹۱۵۵۱۱۰۳۷۰، دفتر پژوهش: ۰۵۱۳۸۴۳۵۰۵۰.

پست الکترونیک: maryam_tehranipour@mshdiau.ac.ir

تاریخ پذیرش نهایی: ۹۶/۵/۲۴

تاریخ دریافت: ۹۶/۵/۱۱

مطالعه با این هدف انجام شد تا در صورت مژثر بودن این عصاره بر تراکم نورونی بتواند زمینه تحقیقات بیشتر را روی نمونه‌های انسانی فراهم سازد و این عصاره به عنوان یک عامل تقویت‌کننده حافظه و یادگیری در افراد سالم و جوان مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی روی ۲۴ سر موش سوری نر بالغ با وزن ۳۰-۴۰ گرم در گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد انجام شد. موش‌های سوری نر بالغ از موسسه سرم سازی رازی خریداری گردید و در شرایط نوری ۱۲ ساعت نور-۱۲ ساعت تاریکی در درجه حرارت ۲۱ درجه سانتی-گراد و رطوبت مناسب، در حالی که امکان دسترسی به آب و غذا برای شان فراهم بود، در اتاق حیوانات دانشگاه آزاد واحد مشهد نگهداری شدند. دانه گیاه ارزن پروسه از مزارع کشاورزی اطراف شهرستان خوف جمع‌آوری گردید و در آزمایشگاه گیاه شناسایی دانشگاه آزاد اسلامی تایید شد. دانه گیاه ارزن پروسه برای عصاره گیری کاملاً آسیاب گردیده و عصاره گیری به روش سوکله انجام شد. پنجاه گرم پودر دانه گیاه ارزن پروسه با حدود ۴۵۰ میلی لیتر اتانول مطلق به عنوان حلال در حرارت ۴۰-۶۰ درجه سانتی-گراد به مدت ۱۰ ساعت در دستگاه سوکله به منظور عصاره گیری قرار داده شد. سپس، عصاره‌های بدست آمده به منظور حذف حلال در انکوپاتور با دمای ۴۵ درجه سانتی-گراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد و بدین وسیله عصاره الکلی گیاه کاملاً تغییظ و خشک گردید [۲۱]. عصاره الکلی کرم رنگ با بازده ۱۲/۸ درصد بود. در تمام طول آزمایش پرتوکل اخلاقی کار با حیوانات رعایت شد تا کمترین درد یا زجری متوجه نشوند. در زمان آزمایش حیوانات به طور تصادفی به ۴ گروه ۶ تایی کنترل، تیمار با عصاره دوز ۲۵ میلی گرم بر کیلو گرم، تیمار با عصاره دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم، و تیمار با عصاره دوز ۷۵ میلی گرم بر کیلو گرم تقسیم شدند. انتخاب دوزها بر اساس تجربیات گذشته بود [۲۱] روز ۲۱ به تیمار عصاره به روش داخل صفاقی (IP) به مدت ۲۱ روز [۲۲] به طور پیوسته با فاصله زمانی ۲۴ ساعت تزریق شد و به گروه شاهد نیز نرمال سالین تزریق شد. دوزها و مدت تزریق دارو انتخابی بود و به صورت تجربی و با مطالعات پایلوت به دست آورده شده‌اند، زیرا کار مشابهی در این زمینه انجام نشده بود. بعد از گذشت یک ماه از اولین تزریق حیوانات با رامپون و کتامین (۶ و ۶۰ میلی گرم بر کیلو گرم وزن بدن) بیهوش گردیدند [۲۲]. برای نفوذ بهتر فیکساتور به مغز قبل از تشریح به کمک متود پرفیوژن تا حدی

هنگامی که هدف از کشتم، تولید دانه باشد جزو غلات به شمار می-آید [۶]. ارزن‌های پروسه نسبتاً پاکوتاه و کم شاخ و برگ هستند و خوش بای دارند، به خشکی نسبتاً مقاوم‌اند، ضمن آنکه نمی‌توانند خشکی شدید را تحمل کنند نسبت به دمای زیر صفر درجه سانتی-گراد نیز حساس هستند. بنابراین در بهار و زمانی که خطر سرما رفع شده باشد، کشت می‌شوند [۷]. کرمان، اصفهان، خراسان و مازندران از استان‌ها و مناطق مهم تولیدکننده ارزن در ایران به شمار می‌روند [۷]. مواد مغذی موجود در ۱۰۰ گرم ارزن پروسه با رطوبت ۱۲ درصد به شرح ذیل می‌باشد: پروتئین ۱۲/۵ گرم، چربی ۳/۵ گرم، خاکستر ۳/۱ گرم، فیبر خام ۵/۲ گرم، کربوهیدرات ۶۳/۸ گرم، انرژی ۳۶۴ کیلوکالری، کلسیم ۸ میلی گرم، آهن ۲/۹ میلی-گرم، تیامین ۰/۴۱ میلی گرم، ریبوفلافوین ۰/۲۸ میلی گرم، و نیاسین ۴/۵ میلی گرم [۸]. پروتئین ارزن منبع خوبی از اسید آمینه‌های ضروری لوسین، ایزولوسین و متیونین است [۹]. در حال حاضر بیش از ۵۰ ترکیب فلاونوئید در گیاه ارزن کشف شده است [۱۰]. هم‌چنین، رژیم‌های غذایی غنی از فلاونوئیدها می‌تواند تاثیر مثبتی بر مغز و اختلالات تخریب نورونی نظیر آلزایمر و پارکینسون داشته باشد [۱۱، ۱۲]. نشان داده شده است که تیمار موش‌های سوری ماده بالغ با بلوبیری [۱۳]، عصاره انگور فرمز [۱۴] و چای سبز منجر به نورون‌زایی و بهبود حافظه می‌شود [۱۵]. فنول‌ها و دیگر اجزای فعال استخراج شده از گیاه ارزن دارای فعالیت آنتی-اکسیدانی هستند. هر ۱۰۰ گرم ارزن معمولی شامل ۲۹ میلی گرم پلی‌فنول و ۲/۲۲ میلی گرم توکوفرول است. به علاوه، رابطه مثبت و معنی‌داری بین پلی‌فنول‌ها و مهار فعالیت رادیکال‌های آزاد مشاهده شده است [۱۶]. همچنین، ارزن دارای فلاونوئیدی به نام کوئرستین است [۱۷] که با خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود باعث بهبود یادگیری و حافظه می‌شود [۱۸]. فعالیت رادیکال‌های آزاد در بدن می‌تواند باعث انواع دژنراسیون، سرطان، دیابت، نارسایی‌های قلبی، آسیب‌های مغزی (از جمله سکته مغزی، پارکینسون و آلزایمر)، مشکلات عضلانی، پیری زودرس، آسیب‌های چشمی و در کل ضعف سیستم ایمنی بدن شود. در این میان آنتی‌اکسیدان‌ها، رادیکال‌های آزاد را از بین برده و موجب بازسازی سلول‌های تخریب شده می‌شوند و کارایی سیستم ایمنی بدن را در مقابل انواع بیماری‌ها افزایش می‌دهند [۱۹]. از آثار مفید ارزن می‌توان جلوگیری از سرطان و بیماری‌های قلبی-عروقی، کاهش بروز تومور، کاهش فشار خون، کاهش کلسترول و میزان جذب چربی و به تأخیرانداختن تخلیه معده را نام برد [۲۰، ۲]. اثر دانه گیاه ارزن پروسه بر تغییر تراکم نورونی هیپوکامپ به صورت تجربی روی حیوانات آزمایشگاهی مورد بررسی قرار نگرفته است، لذا این

فرمول زیر محاسبه گردید [۶]:

$$NV = \frac{\Sigma Q}{\Sigma frame \times Vdisector}$$

در این تحقیق چهارچوب نمونه برداری روی صفحه مانیتور $1/5 \times 1/5$ بود که برای به دست آوردن اندازه واقعی این مساحت به میکرون (μ) روی نمونه از لام میکرومتری استفاده شد. داده‌ها به کمک نرم‌افزار آماری Minitab و آزمون‌های t و Anova شدند و برای مقایسه دو تایی گروه‌ها از آزمون Tukey استفاده شد. داده‌ها به صورت میانگین‌انحراف معیار نمایش داده شدند و سطح معنی‌داری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد. منحنی‌ها به کمک نرم‌افزار Excel رسم شدند [۲۱].

نتایج

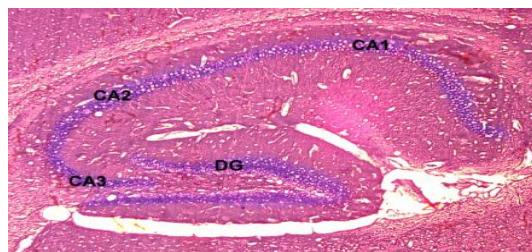
نتایج حاصل از بررسی اثر دانه گیاه ارزن پروسوس بر تراکم نورونی مناطق مختلف هیپوکامپ در گروه‌های تیمار شده با عصاره و گروه کنترل به صورت شمارش نورون‌ها در جدول شماره ۱ آمده است.

جدول شماره ۱- مقایسه میانگین و انحراف معیار تراکم نورونی (میلی متر مکعب) در مناطق مختلف هیپوکامپ گروه‌های مطالعه

گروه ناحیه	تیمار با عصاره ۵۰mg/Kg	تیمار با عصاره ۷۵mg/Kg	تیمار با عصاره ۲۵mg/Kg	کنترل	
CA1	$73 \pm 2/67$	$79 \pm 3/04$	$57 \pm 3/06$	$57 \pm 2/4$	
CA2	$81 \pm 1/98$	$87 \pm 3/82$	$77 \pm 3/06$	$69 \pm 3/06$	
CA3	$101 \pm 2/67$	$109 \pm 3/06$	$87 \pm 2/25$	$77 \pm 2/4$	

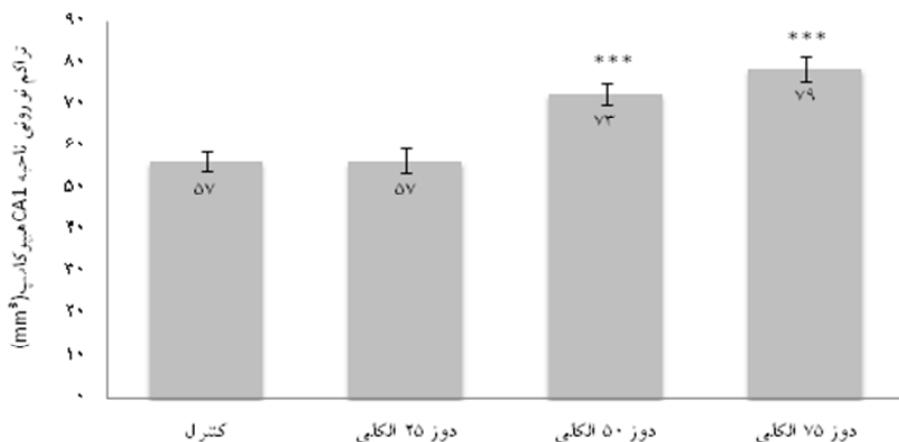
آنالیز آماری داده‌ها نشان می‌دهد که اختلاف بین میانگین تراکم نورونی ناحیه CA1 در گروه‌های کنترل ($57 \pm 2/4$ میلی متر مکعب) و تیمار با دوز 25 میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره ($57 \pm 3/06$ میلی‌متر مکعب) تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد ($P > 0.05$), اما بین تراکم نورونی در گروه‌های کنترل ($57 \pm 2/4$ میلی‌متر مکعب) و تیمار با دوز 50 میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره ($73 \pm 2/67$ میلی‌متر مکعب) و نیز تیمار با دوز 75 میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره ($79 \pm 3/04$ میلی‌متر مکعب) تفاوت معنی‌داری مشاهده می‌شود ($P < 0.05$) (نمودار شماره ۱ و شکل شماره ۲).

بافت‌های مغز فیکس شدند. پس از اتمام پروفیوژن مغز به آرامی از جمجمه خارج شده و در فرمالین نمکی 10 درصد قرار داده شد و پس از طی مراحی پاساز بافتی از مغز برش‌های سازیتال سریال 7 میکرونی تهیه شده و با آبی تولوئیدین و اریتروزین رنگ‌آمیزی شد [۲۲]. سپس، ناحیه هیپوکامپ و مناطق مختلف آن شناسایی شد (شکل شماره ۱).

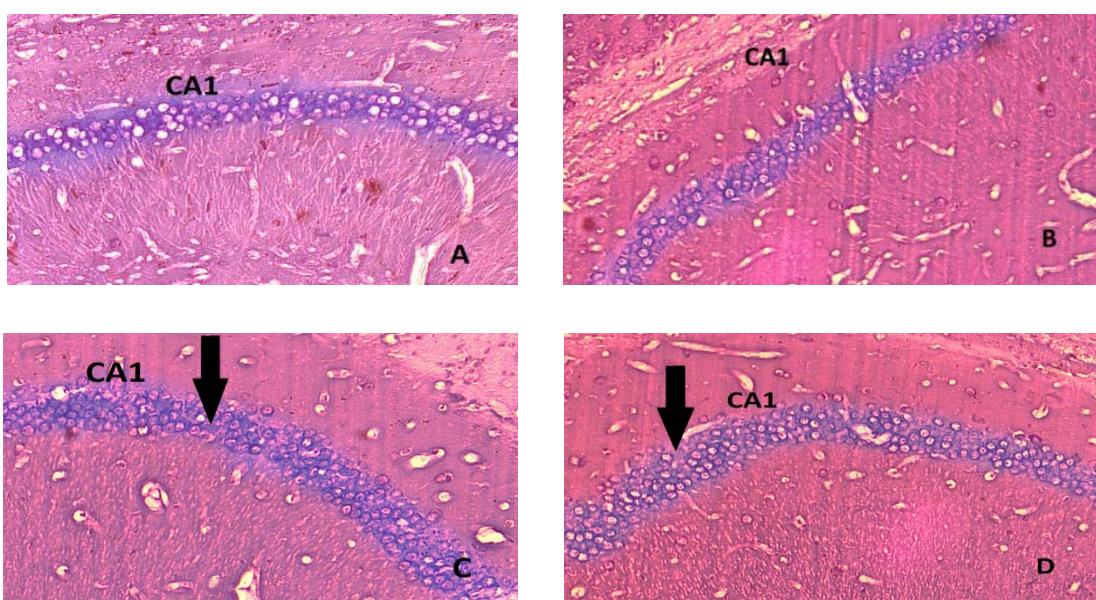


شکل شماره ۱- تصویر بافت شناسی مناطق مختلف هیپوکامپ موش سوری نر

از مناطق CA1, CA2 و CA3 هیپوکامپ عکسبرداری به عمل امد. در حدود 100 برش شمارش انجام شد. از دو برش متوالی عکس‌های جداگانه تهیه شد و با حفظ شماره و ترتیب برای مطالعات بعدی قرار داده شدند. بزرگنمایی میکروسکوپی 100 بود. برای شمارش نورونی از روش نمونه‌برداری تصادفی استفاده گردید و برای شمارش ذرات یعنی نورون‌ها از روش دایسکتور و متود استریولوژی استفاده شد. متغیرهای لازم برای آنالیز داده‌های خام این چنین تعریف می‌شوند: ΣQ : مجموع نورون‌های شمارش شده در یک نمونه؛ $\Sigma frame$: مجموع دفعات نمونه‌برداری شده؛ A : حجم چهارچوب نمونه‌برداری که برابر است با $A frame$; $H = Vdisector$ برداری؛ H : فاصله بین دو برش یا ضخامت هر برش و $\Sigma frame$ حاصل تقسیم مجموع نورون‌های شمارش شده در یک نمونه بر مجموع دفعات نمونه‌برداری شده. برای بررسی داده‌ها با استفاده از برنامه‌های آماری مانند t نیاز به پارامتر دیگری به نام NV (Numerical density) یا تراکم تعداد است. این پارامتر از



نمودار شماره ۱- مقایسه تراکم نورونی ناحیه CA1 در گروههای تیمار شده با عصاره الکلی دانه گیاه ارزن پروسو با دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ mg/Kg با گروه کنترل ($n=6$) ($P<0.001**$ و $P<0.05*$). تفاوت معنی دار بین گروههای تیمار با گروه کنترل را نشان می دهد.

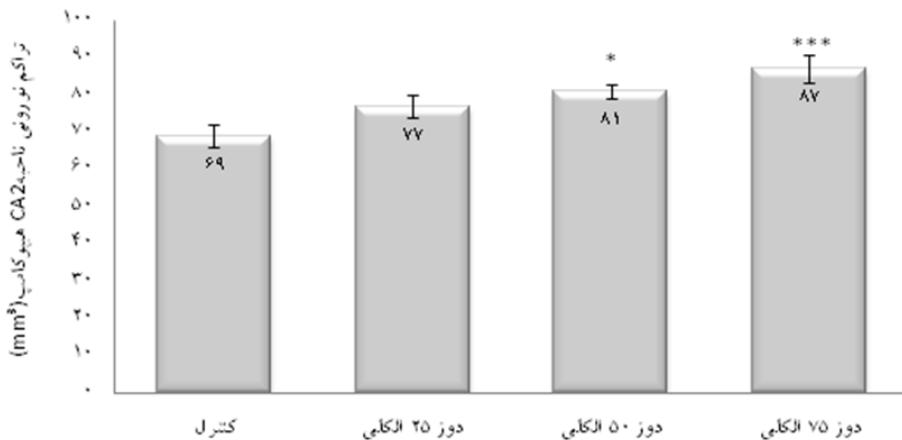


شکل شماره ۲- تصاویر ناحیه CA1 هیپوکامپ موش های صحرایی تیمار شده با دوزهای تزریقی (۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم) عصاره الکلی دانه گیاه ارزن و گروه کنترل با رنگ آمیزی آبی تولوئیدین و اریتروزین (۱۰۰ \times) (فلش نشان دهنده افزایش تراکم نورونی هیپوکامپ می باشد).

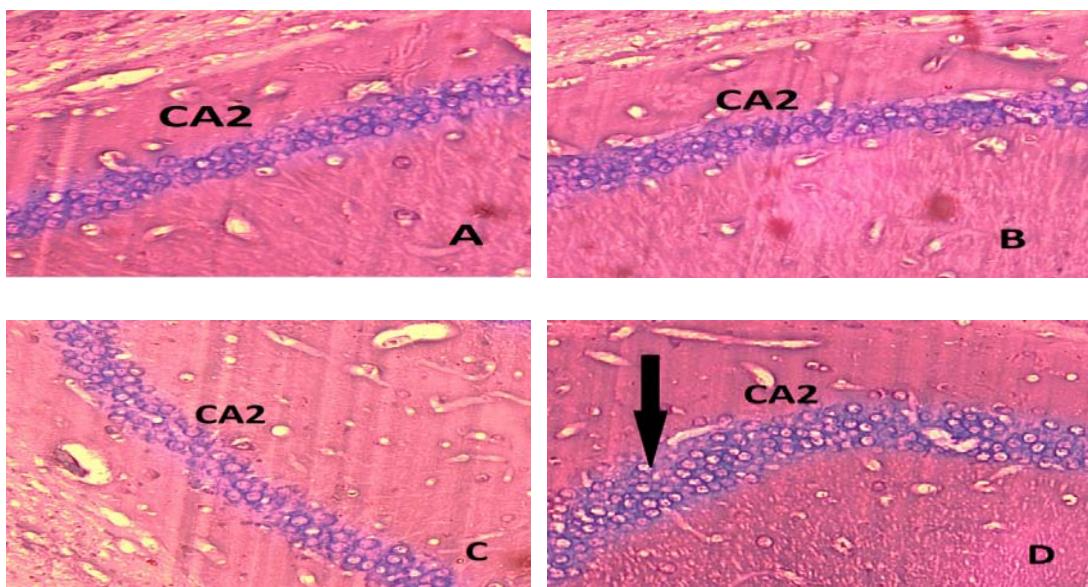
A: گروه کنترل؛ B: عصاره با دوز ۷۵ mg/Kg؛ C: عصاره با دوز ۵۰ mg/Kg؛ D: عصاره با دوز ۲۵ mg/Kg

آنالیز آماری داده ها نشان می دهد که اختلاف بین میانگین تراکم نورونی ناحیه CA2 در گروههای کنترل (69 ± 3.06 میلی متر مکعب) و تیمار با دوز ۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره (۸۷ ±3.82 میلی متر مکعب) تفاوت معنی داری مشاهده می شود ($P<0.05$) (نمودار شماره ۲ و شکل شماره ۳).

آنالیز آماری داده ها نشان می دهد که اختلاف بین میانگین تراکم نورونی ناحیه CA2 در گروههای کنترل (69 ± 3.06 میلی متر مکعب) و تیمار با دوز ۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره (۷۷ ±3.06 میلی متر مکعب) و نیز تیمار با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره (۸۱ ±3.98 میلی متر مکعب) تفاوت معنی داری را نشان نمی دهد.



نمودار شماره ۲- مقایسه تراکم نورونی ناحیه CA2 در گروههای تیمار شده با عصاره الکلی دانه گیاه ارزن پروسو با دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ mg/Kg با گروه کنترل ($n=6$) ($P<0.05$ * و $P<0.001$ **).

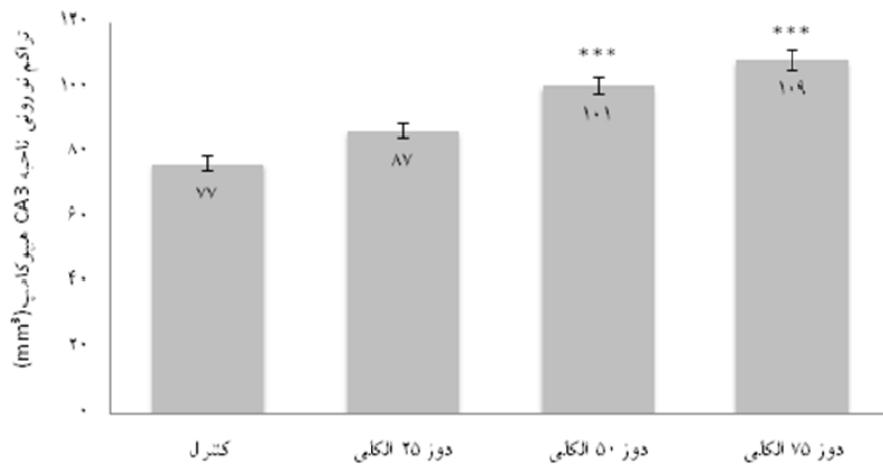


شکل شماره ۳- تصاویر ناحیه CA2 هیپوکامپ موش‌های صحرابی تیمار شده با دوزهای تزریقی (۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم) عصاره الکلی دانه گیاه ارزن و گروه کنترل را نشان دهنده افزایش تراکم نورونی هیپوکامپ می‌باشد.

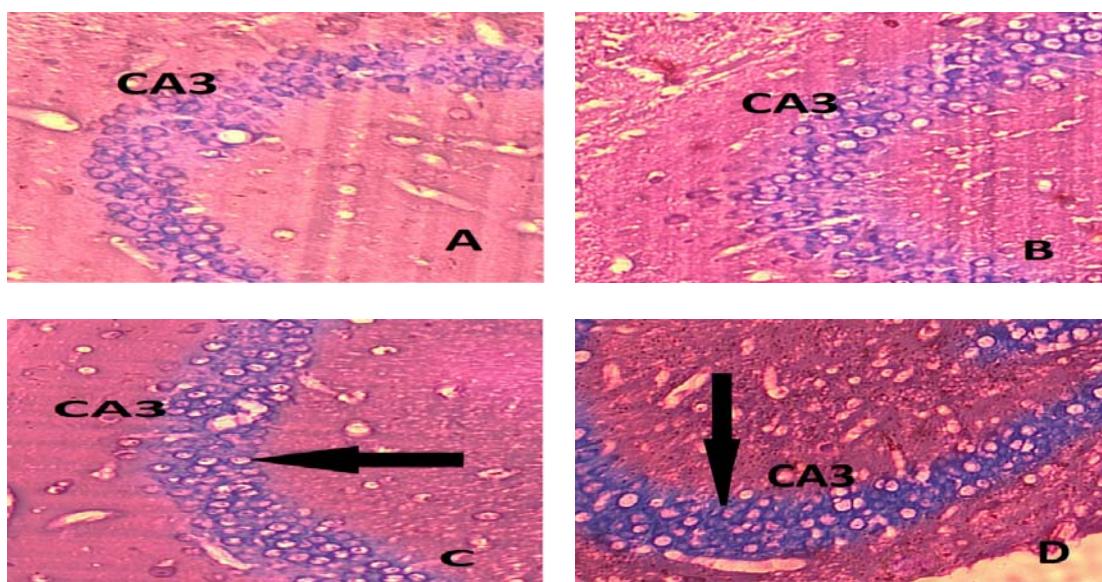
A: گروه کنترل؛ B: عصاره با دوز ۷۵ mg/Kg؛ C: عصاره با دوز ۵۰ mg/Kg؛ D: عصاره با دوز ۲۵ mg/Kg.

همچنین، آنالیز آماری داده‌ها نشان می‌دهد که اختلاف بین میانگین تراکم نورونی ناحیه CA3 در گروههای کنترل ($77 \pm 2/4$ میلی متر مکعب) و تیمار با دوز ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره (۸۷ $\pm 2/25$ میلی متر مکعب) تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد ($P>0.05$).

اما بین تراکم نورونی در گروههای کنترل ($77 \pm 2/4$ میلی متر مکعب) و تیمار با دوز ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره



نمودار شماره ۳- مقایسه تراکم نورونی ناحیه CA3 در گروههای تیمار شده با عصاره الکلی دانه گیاه ارزن پروسو با دوزهای ۲۵، ۵۰ و ۷۵ mg/Kg با گروه کنترل ($n=6$) ($P<0.05^*$ و $P<0.001^{***}$). تفاوت معنی دار بین گروههای تیمار با گروه کنترل را نشان می دهد.



شکل شماره ۴ - تصاویر ناحیه CA3 هیپوکامپ موش های صحرابی تیمار شده با دوزهای تزریقی (۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی گرم بر کیلوگرم) عصاره الکلی دانه گیاه ارزن و گروه کنترل با رنگ آمیزی آبی تولوئیدین و اریتروزین (۱۰۰ \times) (فلاش نشان دهنده افزایش تراکم نورونی هیپوکامپ می باشد). A: گروه کنترل؛ B: عصاره با دوز ۲۵ mg/Kg؛ C: عصاره با دوز ۵۰ mg/Kg و D: عصاره با دوز ۷۵ mg/Kg

وسیله جایگزینی سلول ها ترمیم خودبخودی را انجام می دهدند. تعدادی از مطالعات در این زمینه نشان داده اند که آکسون های مغز توانایی رشد مجدد را بعد از مواجه شدن با درجاتی از صدمات دارند [۲۳]. برای اینکه سلول های جدید مغزی توسعه پیدا کنند سلول های بنیادی عصبی چندظرفیتی در مغز تقسیم شده و به نورون های سلول های گلیایی جدید تبدیل می شوند. برای بالغ شدن این سلول ها از سلول های چندظرفیتی جدا می شوند و این نورون ها با نورون های فعال ارتباط برقرار می کنند و پیش از یکماه طول

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که تراکم نورونی در نواحی CA3 و CA1 گروه تیمار شده با دوز ۵۰ mg/Kg عصاره و در تمام نواحی هیپوکامپ گروه تیمار شده با دوز ۷۵ mg/Kg عصاره الکلی دانه گیاه ارزن افزایش معنی داری داشته است ($P<0.05$). نورون زایی امیدی برای افراد مبتلا به اختلالات مغزی از جمله پارکینسون، هانتینگتون و آزمایر می باشد. یکی از اهداف اصلی محققان کشف داروهایی برای تحریک مناطقی از مغز است که به-

مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدان برای حفاظت از سلول‌ها و بافت‌ها در برابر آسیب‌های اکسیداتیو مهم هستند. بنابراین، کوئرستین با خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود می‌تواند باعث بهبود حافظه و یادگیری شود [۳۳]. همچنین، کوئرستین اثر قابل ملاحظه محافظتی روی سلول‌های عصبی در حال دژنره شدن در بیماری آلزایمر دارد [۳۴]. در مطالعه‌ای تاثیر کوئرستین روی عملکرد شناختی موش‌های مدل پارکینسون بررسی شده و مشخص گردید کوئرستین باعث افزایش حافظه فضایی می‌شوند [۳۵]. تاکنون تحقیقی درخصوص تاثیر عصاره ارزن بر تراکم نورونی هیپوکامپ انجام نشده است؛ با این وجود احتمال می‌رود اثر عصاره الکلی ارزن بر نورون‌زایی به دلیل کوئرستین موجود در آن باشد. همچنین، نورون‌زایی توسط فاکتورهای رشد کنترل می‌شود که این فاکتورها می‌توانند تکامل سلول‌های جدید را رهبری کنند. فاکتورهای رشد دیگری از جمله فاکتورهای نروتروفیک نیز سلول را زنده نگه می‌دارند [۲۴] بعضی از عصاره‌های طبیعی گیاهان دارای ترکیباتی هستند که مشابه با فاکتورهای نوروتروفیک در بدن می‌باشند؛ این ترکیبات باعث بقای سلول‌های عصبی و احتمالاً تحریک نورون‌زایی و فرآیندهای وابسته به آن می‌شود [۲۴]. در سیستم اعصاب مرکزی، فاکتور رشد عصبی (NGF) ارتباط نزدیکی با سیستم کولینرژیک-ژیک دارد. NGF بقای نورون‌های کولینرژیک آسیب دیده در شرایط آزمایشگاهی را افزایش می‌دهد. همچنین باعث حفظ و تنظیم فنوتیپ نورون‌های کولینرژیک می‌شود. NGF یک عمل شبناقل عصبی در جهت تنظیم انتقال عصبی کولینرژیک و تحریک‌پذیری نورونی دارد. داروها و ترکیباتی که تولید NGF را در سیستم اعصاب مرکزی تشدید می‌کنند، می‌توانند در درمان بیماری آلزایمر مفید باشند؛ چراکه نورون‌های کولینرژیک بهویژه در بیماری آلزایمر آسیب می‌بینند [۳۶]. Kasaka و Yokoi عصاره برگ رزماری را به محیط کشت سلول‌های گلیوبلاستومای انسانی اضافه کرده و مشاهده نمودند که سنتز NGF در این سلول‌ها افزایش می‌یابد. بدلاً از این عصاره برای درمان کاهش حافظه در بیماری آلزایمر استفاده نمودند [۳۷]. بدین ترتیب شاید اثر مفید عصاره دانه گیاه ارزن روی تراکم نورونی هیپوکامپ به این دلیل باشد؛ زیرا نقش ارزن در تولید عامل رشد عصب ثابت شده است [۳۸].

نتیجه گیری

این مطالعه نشان داد که تراکم نورونی در نواحی CA1 و CA3 گروه تیمار شده با دوز 50 mg/Kg عصاره و در تمام

می‌کشد تا نورون‌های جدید قادر به ارسال و دریافت پیام‌های جدید شوند، که این نشان می‌دهد نورون‌زایی یک فرآیند کاملاً کنترل شده است [۲۴]. با توجه به نتایج این پژوهش، بهنظر می‌رسد که عصاره الکلی دانه گیاه ارزن موجب تحریک نورون‌زایی می‌شود. اخیراً شواهد زیادی تاثیرات مثبت فلاونوئیدها را بر مغز نشان می‌دهد [۲۶، ۲۵]. فلاونوئیدها شبکه‌های عصبی را با تحریک نورون‌زایی افزایش می‌دهند [۲۷]. همچنین، گزارش شده است که فلاونوئیدها برای بهبود عملکردهای شناختی نیز مفید می‌باشند [۲۸]. فلاونوئیدها در بسیاری از سبزیجات و میوه‌ها و دانه‌ها وجود دارند و تا حد زیادی بر عملکردهای مختلف مغزی نظری جریان خون مغزی و شکل پذیری سیناپسی، یا همان مکانیسم احتمالی یادگیری و حافظه، تاثیر می‌گذارند [۲۵]. اولین و مهم‌ترین ویژگی فلاونوئیدها، فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها و توانایی آنها برای مهار تشکیل گونه‌های اکسیژن فعال است [۱۷]. بسیاری از شواهد نشان داده است که فلاونوئیدها به دلیل بالا بودن نسبت آنتی‌اکسیدانی آنها، نقش مهمی در بهبود تراکم نورونی دارند [۲۶]. برخی از مطالعات نشان داده‌اند که فلاونوئیدها از آسیب‌های عصبی در لایه‌های هرمی هیپوکامپ جلوگیری می‌کند [۲۹]. اثرات مفید فلاونوئیدها روی سلول‌های اندوتیال و جریان خون محیطی می‌تواند باعث افزایش عملکرد مغزی و تسهیل نورون‌زایی در هیپوکامپ بزرگ‌سالان شود [۳۰]. فلاونوئیدها همچنین با اثر بر پروتئین کینازها، لیپید کینازها (P13/Akt) و مسیر MAP کینازها موجب بهبود ارتباطات نورونی در مناطق شکنجه دندانهای و CA3 هیپوکامپ و به دنبال آن منجر به بهبود شکل پذیری سیناپسی می‌شوند. این ترکیبات روی مسیر ERK/CREB اثر کرده و آن را فعال می‌کنند [۱۱]. در حال حاضر بیش از ۵۰ ترکیب فنولیک متعلق به چندین گروه به نام فنولیک اسیدها و مشتقان آنها از قبیل توکوفرول، فلاونول، فلاون، فلاوانول و فلاوانون در گیاه ارزن کشف شده است [۱۰]. لذا بهنظر می‌رسد که اثرات عصاره دانه گیاه ارزن بر نورون‌زایی ناشی از ترکیبات پلی‌فنولی و فلاونوئیدهای موجود در این عصاره باشد. یکی از فلاونوئیدهای مهم موجود در ارزن کوئرستین است [۱۸]. نشان داده شده است که پلی‌فنول‌های مختلف شامل کوئرستین باعث محافظت در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از آمیلوئید- β در مدل‌های حیوانی بیماری آلزایمر می‌شوند [۳۱]. علاوه‌بر این، گزارش شده است که کوئرستین اثرات محافظتی در برابر آسیب‌های ایسکمیک مغزی را نشان می‌دهد [۳۲]. کوئرستین مانع از آسیب اکسیداتیو و مرگ سلول‌ها از طریق مکانیسم‌های مختلفی از جمله مهار رادیکال‌های اکسیژن، مهار زانین اکسیداز و پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایاننامه برای اخذ درجه کارشناسی ارشد است. بدین وسیله از همه همکاران گروه زیست شناسی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، مدیریت گروه سرکار خانم دکتر مریم طهرانی پور و ریاست محترم دانشکده علوم آقای دکتر فرشید سعیدی به خاطر همکاری های بی دریغ شان تشکر و قدردانی می شود.

ناوهی هپوکامپ حیوانات تیمار شده با دوز ۷۵ mg/Kg عصاره الکلی دانه گیاه ارزن افزایش می یابد. لذا عصاره الکلی دانه گیاه ارزن می تواند اثرات نوروژانزی در هپوکامپ القا کرده و تراکم نورومنی را در این مناطق افزایش دهد. همچنین، با درنظر گرفتن ارتباط مستقیم تعداد نورومنها در هپوکامپ و میزان حافظه، می توان از این عصاره برای بهبودی اختلال حافظه در بیماری هایی مثل پارکینسون استفاده کرد و با وارد کردن این غلات به رژیم غذایی احتمالاً می توان از ابتلا به بیماری هایی مثل آלצהیر جلوگیری کرد.

References:

- [1] Gorden M.s. Neurobiology. 3rd ed. *Oxford university press*; 2000. p. 618-34.
- [2] Guyton AC, Hall JE. Textbook of Medical physiology. 3rd. Philadelphia: Saunders; 2008. p. 645-643.
- [3] Jahanshahi M, Sadeghi Y, Hosseini A, Naghdi N, Piriaie A. Working memory learning method and astrocytes number in different subfields of rat's hippocampus. *J Animal Veterinary* 2008; 3(1): 31-28.
- [4] Achille G, Synthia H. Ganadotropins and Progestogens: Obligatory developmental function during early embryogenesis and their role in adult neurogenesis, neuroregeneration and neurodegeneration. *Academic Press* 2011; 1: 375-305.
- [5] Taupin P. The hippocampus: neurotransmission and plasticity in the nervous system. 1st. New York: Nova Biomedical Books; 2008. P. 25-20.
- [6] Baker RD. Millet production. Cooperative Extension Service, *New Mexico State* 1996; 1: 41-1.
- [7] Kazemi Arbat H. private farming. *Jahad University Press* 2003; p. 228-17. [in Persian]
- [8] Hulse JH, Laing EM, Pearson OE. Sorghum and the millets: their composition and nutritive value. New York: *Academic Press*; 1980. P. 997-1.
- [9] Kalinova J, Moudry J. Content and quality of protein in proso millet (*Panicum miliaceum L.*) varieties. *Plant Foods Hum Nutr* 2006; 9: 61-45.
- [10] Chandrasekara A, Shahidi F. Content of insoluble bound phenolics in millets and their contribution to antioxidant capacity. *J Agric Food Chem* 2010; 58: 6706-14.
- [11] Mehla J, Pahuja M, Gupta YK. Streptozotocin-Induced Sporadic Alzheimer's Disease: Selection of Appropriate Dose. *J Alzheimers Dis* 2013; 33(1): 21-17.
- [12] Williams R, Spencer J. Flavonoids. Cognition and dementia: actions, mechanisms and potential therapeutic utility for Alzheimer's disease. *Free Radical Bio Med* 2011; 127(3): 213-210.
- [13] Andres-Lacueva CB, Shukitt-Hale RL, Galli O, Jauregui RM, et al. Anthocyanins in Aged Blueberry-Fed Rats Are Found Centrally and May Enhance Memory. *Nutr Neurosci* 2005; 8(2): 111-20.
- [14] Querfurth HW, LaFerla FM. Alzheimer's Disease. *N Engl J Med* 2010; 362(4): 329-44.
- [15] Tahmasebi S, Heidarien N, Mohagerani HR. Effects of Crataegus Aronia on Passive Avoidance Learning in Wistar Male Rats. *J Cellular Molecular Biotechnol News* 2013: 86-79.
- [16] Choi Y, Jeong H-S, Lee J. Antioxidant activity of methanolic extracts from some grains consumed in Korea. *Food Chem* 2007; 103(1): 130-8.
- [17] Kumar S, Pandey AK. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *Scientific World J* 2013; 20:750-162.
- [18] Pradeep P.M, Yadahally N, Sreerma N. Soluble and bound phenolics of two different millet genera and their milled fractions: Comparative evaluation of antioxidant properties and inhibitory effects on starch hydrolysing enzyme activities. *J Functional Foods* 2017; 35:693-685.
- [19] Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biol Int* 2006; 160: 40-1.
- [20] Truswell AS. Cereal grain and coronary heart disease. *Eur J Clin Nutr* 2002; 56(1): 4-1.
- [21] Tehranipour M, Sabzalizade M. Effect of *Cannabis sativa* alcoholic extract on hippocampus neuronal density in Rats. *J Gorgan Univ Med Sci* 2011; 13(2): 15-9. [in Persian]
- [22] Behnam-rasouli M, Nikravesh M, Mahdavi N, Tehranipour M. Post-Operative time effects after sciatic nerve crush on the number of alpha motoneurons, using a stereological counting method (disector). *Iran Biomedical J* 2000; 4(1): 45-9.
- [23] Kempermann G, Kuhn H.G, Gage F.H. More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature* 1997; 386: 495-493.
- [24] Gage F. Brain repair yourself. *Scientific American* 2003; 289(3): 95-87.
- [25] Rendeiro C, Rhodes JS, Spencer JP. The mechanisms of action of flavonoids in the brain: Direct versus indirect effects. *Neurochem Int* 2015; 89: 139-126.

- [26] Wang H, Wang H, Cheng H, Che Z. Ameliorating effect of luteolin on memory impairment in an Alzheimer's disease model. *Mol Med Rep* 2016; 13: 4220–15.
- [27] Oberbauer E, Urmann C, Steffenhagen C, Bieler L, Brunner D, Furtner T, et al. Chroman-like cyclic prenylflavonoids promote neuronal differentiation and neurite outgrowth and are neuroprotective. *J Nutr Biochem* 2013; 24: 1962–53.
- [28] Macready AL, Kennedy OB, Ellis JA, Williams CM, Spencer JP, Butler LT. Flavonoids and cognitive function: a review of human randomized controlled trial studies and recommendations for future studies. *Genes Nutr* 2009; 4: 227-42.
- [29] Ashrafpour M, Parsaei S, Sepehri H. Quercetin improved spatial memory dysfunctions in rat model of intracerebroventricular streptozotocin-induced sporadic Alzheimer's disease. *Natl J Physiol* 2015; 5: 411-5.
- [30] Vauzour D, Vafeiadou K, Rodriguez-Mateos A, Rendeiro C, Spencer PE. The neuroprotective potential of flavonoids: a multiplicity of effects. *Genes Nutr* 2008; 3(3-4): 115-26.
- [31] Pocernich CB, Lange ML, Sultana R, Butterfield DA. Nutritional approaches to modulate oxidative stress in Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res* 2011; 8: 469-52.
- [32] Lei X, Chao H, Zhang Z, Lv J, Li S, Wei H, et al. Neuroprotective effects of quercetin in a mouse model of brain ischemic/reperfusion injury via anti-apoptotic mechanisms based on the Akt pathway. *Mol Med Rep* 2015; 12: 3696–88.
- [33] Abd El, Bakry AE. Quercetin protective action on oxidative stress, sorbitol, insulin resistance and β -cells function in experimental diabetic rats. *IJP SR* 2011; 2(2): 7-1.
- [34] Heo HJ, Lee CY. Protective effects of quercetin and vitamin C against oxidative stress-induced neurodegeneration. *J Agric Food Chem* 2004; 52(25): 7514-7.
- [35] Sriraksa N, Wattanathorn J, Muchimapura S, Tiamkao S, Brown K, Chaisiwamongkol K. Cognitive-Enhancing Effect of Quercetin in a Rat Model of Parkinson's Disease Induced by 6-Hydroxydopamine. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine (eCAM). 2012; 2012.
- [36] Rattray M. Is there nicotinic modulation of nerve growth factor? Implications for cholinergic therapies in Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry* 2001; 49(3): 185-93.
- [37] Kosaka K, Yokoi T. Carnosic Acid, a component of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.), promotes synthesis of nerve growth factor in T98G human glioblastoma cells. *Biol Pharm Bull* 2003; 26: 1620-2.
- [38] Rajasekaran NS, Nithya M, Rose C, Chandra TS. The effect of finger millet feeding on the early responses during the process of wound healing in diabetic rats. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1689(3-4): 190-201.