مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۲۵، شماره ۱۲، اسفند ۱۳۹۶
صفحه:۱۰۰۲-۹۹۴

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 25, No.12, Dec 2017
Pages: 994-1002

اثر سالویجنین بر یادگیری و حافظه و میزان بیان ژن mRNA فاکتور رشد دهنده عصبی مشتق از مغز (BDNF) در هیپوکمپ موش صحرایی نر آلزایمری شده

فاطمه سنجرانی[۱]، منصور اسمعیلی دهج[۲]، فاطمه زارع مهرجردی[۳]، طیبه اقبالی[۴]، محمد ابراهیم رضوانی*[۵]

چکیده

مقدمه: سالویجنین نوعی فاوونووید گیاهی است اثر آن بر حافظه و یادگیری مطالعه نشده است. هدف از این مطالعه تعیین اثر سالویجنین بر یادگیری و حافظه و میزان بیان ژن mRNA فاکتور رشد عصبی مشتق از مغز (Brain derived neurotrophic factor, BDNF) در هیپوکمپ موش صحرایی نر آلزایمری شده می‌باشد.

روش بررسی: برای ایجاد مدل آلزایمری از تزریق داخل صفاقی دی گالاکتوز با دوز ۱۲۰ mg/kg به مدت ۴۵ روز به موشهای صحرایی‌نر استفاده شد. ۴ گروه هفت‌تایی از موش‌ها شامل گروه کنترل بدون تیمار، گروه آلزایمر که بوسیله تزریق داخل صفاقی دی‌گالاکتوز با دوز ۱۲۰ mg/kg به مدت ۴۵ روز دچار آلزایمر شدند. گروه‌های دریافت کننده سالویجنین در دوز ۱۰ و۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بودند. حافظه موشها ۲ و ۷ روز پس از یادگیری ارزیابی و میزان بیان ژن BDNF ارزیابی گردید.

نتایج: نتایج مطالعه نشان داد که تجویز روزانه دوزهای مختلف سالویجنین می‌تواند موجب افزایش معنی‌دار در مدت زمان تاخیر در ورود به محفظه تاریک شود ($p<۰.۰۵$) که در موش‌های آلزایمر نسبت به گروه کنترل افزایش یافته بود ($p<۰.۰۵$). میزان بیان mRNA ژن فاکتور BDNF در گروه آلزایمر بطور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش یافت ($p<۰.۰۵$). سالویجنین توانست میزان بیان این ژن را نسبت به گروه کنترل بطور معنی‌داری افزایش دهد ($p<۰.۰۱$).

نتیجه گیری: بطور کلی میتوان نتیجه‌گرفت که سالویجنین می‌تواند باعث بهبود حافظه ناشی از آلزایمر در موش‌های صحرایی شود. همین طور میزان بیان ژن mRNA فاکتور BDNF را در موش‌های آلزایمری افزایش می‌دهد.

واژه های کلیدی : عصاره سالویجنین، یادگیری، حافظه، موش صحرایی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد
۲،۳،۵- دانشیار فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد
۴- دکتری داروسازی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد
*(نویسنده مسئول)؛تلفن: ۰۹۱۳۱۵۶۶۲۹۵ ، پست الکترونیکی:erezvani@yahoo.com
تاریخ دریافت:۱۳۹۵/۱۰/۴ تاریخ پذیرش:۱۳۹۶/۱۰/۳۰

مقدمه

آلزایمر عبارت است از یک بیماری پیشرونده همراه با تخریب سلولهای مغزی که با درجات مختلفی از فراموشی، تا فراموشی کامل خود شخص بیمار، همراه بوده و طبیعتاً با یک فراموشی ساده تفاوت دارد. این بیماری مهمترین بیماری تحلیل برنده مغز است که در هر دو جنس به یک نسبت دیده می‌شود. آلزایمر شایع‌ترین علت فراموشی محسوب می‌شود. فراموشی یک نشانگان بالینی است که با یک سلسله علائم و نشانه‌ها شامل اختلال حافظه، اختلال در تکلم، تغییرات روان‌شناختی و روان‌پزشکی و اختلال در فعالیت‌های روزمره زندگی تظاهر می‌کند. خطر بروز بیماری آلزایمر در طول زندگی به ترتیب ۱۵ درصد برای افراد بالای ۶۵ سال و ۴۰ درصد برای افراد بالای ۸۰ سال می‌باشد.

مکانیسم ایجاد این بیماری دقیقاً مشخص نشده، اما می‌دانیم که در این بیماری آنزیم استیل کولین ترانسفراز و نیز شاخص‌های فعالیت عصبی کولینرژیک به طرز چشم‌گیری کاهش می‌یابد. به طور کلی سه دیدگاه برای بهبود و درمان بیماری آلزایمر وجود دارد. دیدگاه اول جلوگیری از تشکیل پلاک‌های بتا- آمیلوئید است. دیدگاه دوم استفاده از مهارکننده‌های استیل کولین استراز و بوتریل کولین استراز می‌باشد و دیدگاه آخر، جلوگیری از تخریب هر چه بیشتر سلولهای نورونی می‌باشد (۱). آنالیز محتوای نوروترانسمیترها در کورتکس مغز نشان می‌دهدکه ۹۰-۶۰ درصد بیماران مبتلا به آلزایمر دچار نقص در محتوای استیل کولین می‌باشند که در اثر آتروفی شدن نورون‌های کولینرژیک ایجاد می‌شود (۲).

مطالعات نشان داده‌اند که داروهای زیادی بر حافظه و یادگیری مؤثرند. داروهای کولینرژیک اثرات مثبت روی حافظه داشته در حالی که داروهای آنتی‌کولینرژیک، آنتی‌پسیکوز و داروهای بیهوشی اثرات منفی بر حافظه دارند (۴،۳). درمان دارویی استاندارد برای بیماری آلزایمر شامل مهارکننده‌های استیل کولین استراز و آنتاگونیست‌های NMDA (مانند ممانتین) می‌باشد. چهار مهارکننده استیل کولین استراز به وسیله انجمن غذا و داروی امریکا، مورد تائید قرارگرفته‌اند تا برای درمان آلزایمر استفاده شوند که شامل تاکرین، دانپزیل، ریواستیگمین، گالانتامین می‌باشند. هر چهار دارو استیل کولین استراز را در محل سیناپس مهار می‌کنند (۵، ۶، ۷).

مریم گلی (*Salvia officinalis*) گیاهی چند ساله و علف ، ریشه راست و دارای انشعابات فراوان، ساقه راست و دارای ارتفاع بین ۸۰-۵۰ سانتی‌متر و متعلق به شاخه اسپرماتوفیتا (گیاهان دانه‌دار)، زیرشاخه نهان‌دانگان، رده دولپه‌ای‌ها، راسته Lamiales، خانواده نعناعیان (Lamiaceae) است (۹،۸). ساقه‌های جوان به رنگ سبز تیره و پوشیده از کرکهای انبوه و خاکستری رنگ است. مریم گلی دارای اثرات گوناگون فارماکولوژیکی می‌باشند که از آن جمله می‌توان به خاصیت آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌کولین استرازی، ضدمیکروبی، ضدسرطان، ضدالتهابی و بهبود قابلیت شناخت و حافظه اشاره کرد (۱۰).

سالویجنین در این مطالعه یک فلاونوئید با درجه خلوص ۹۵ درصد است که از گیاه مریم گلی استخراج شده است. سالویجنین تاثیرهای ضد سرطانی، ضد جهش‌زایی و تعدیل ایمنی داشته است (11). در یک مطالعه عصاره الکلی گیاه salvia officinalis با دوز 50 mg/kg به صورت درون صفاقی به موش تزریق شد، نتایج بدست آمده در این مطالعه نشان‌دهنده خواص بالقوه این گیاه در تقویت حافظه بود (۱۲).

حال با توجه به اینکه در تحقیقات قبلی اثر این فلاونوئید بر حافظه احترازی غیرفعال به صورت تجربی روی حیوانات آزمایشگاهی مورد بررسی قرار نگرفته است، لذا نخست این مطالعه با این هدف انجام شد تا اثر این فلاوونوئید را بر حافظه و یادگیری را در موش‌های آلزایمری مورد بررسی قرار گیرد. سالویجنین یک رشد دهنده سیستم عصبی هست و در تغییرات ساختاری که در درازمدت در مغز زخ می‌دهد نقش دارد. از آنجائیکه بخش بزرگی از اثرات بهبوددهندگی فلاوونوئیدها از جمله سالویجنین برای بهبود عملکردهای عالی مغز مانند یادگیری و حافظه بواسطه افزایش تولید فاکتور رشد عصبی مشتق از مغز (BDNF) صورت می‌گیرد میزان بیان این ماده نیز در مغز اندازه گیری شد.

روش بررسی

حیوانات :

در این مطالعه تجربی از ۲۸ سرموش صحرایی نر (رت) نژاد ویستار (Wistar) در محدودهٔ وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم که به طور تصادفی انتخاب شدند استفاده شد. تمامی موشها به طور جداگانه در قفس و در محیطی با شرایط کنترل شده و در دمای ۲۳-۲۱ درجه سانتی‌گرد با چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند و به جز در طول آزمایش، به غذای استاندارد و آب دسترسی داشتند. انجام این تحقیق به لحاظ اخلاقی توسط کمیته اخلاق پژوهشی کار با حیوانات آزمایشگاهی با کد IR.SFU.medicine.REC.1395.41 مورد تایید قرار گرفت.

روش تهیه سالویجنین:

به منظور جداسازی و خالص‌سازی سالویجنین ۵۰۰ گرم از اندام‌های هوایی و خشک شده گیاه به مدت ۲۴ساعت در کلروفرم خیسانده می‌شود. سپس حلال بااستفاده از تبخیر کننده چرخان تبخیر می‌شود. برای چربی‌گیری عصاره به دست آمده در حداقل متانول حل شده و در فریزر به مدت ۴۸ ساعت قرار می‌گیرد .پس از صاف کردن و تبخیر حلال با تبخیر کننده چرخان عصاره باقی مانده به شکل یک عصاره غلیظ سبز رنگ به دست می‌آید و برای جداسازی اجزای آن از کروماتوگرافی ستونی و برای پر کردن ستون از سیلیکاژل مرک (۰/۰۹ -۰/۰۶) ۶۰ استفاده می‌شود. برای شستشوی ستون حلال غیر قطبی پترولیوم اتر به کار گرفته می‌شود و سپس با افزایش دی اتیل اتر قطبیت افزایش می‌یابد، حجم حلال‌هایی که در هر نوبت اضافه می‌شود، ۱۰۰ میلی لیتر و حجم اعضای جمع‌آوری شده در هر ارلن ۵۰ میلی لیتر است. درنهایت ستون با متانول شسته می‌شود تا تمامی اجزای باقی‌مانده از ستون خارج شوند. از اجزای به دست آمده کروماتوگرافی لایه نازک با استفاده از ورقه‌های آلومینیومی پوشیده از سیلیکاژل تهیه می‌شود. اجزای مشابه به هم اضافه می‌شود و برای خالص سازی بیشتر دوباره از کروماتوگرافی ستونی و لایه نازک استفاده می‌شود.

روش القای بیماری:

تعداد ۲۸ سر موش صحرایی به ۴ گروه تقسیم شدند. گروه کنترل (Cont) شامل موشهایی که هیچ دارویی دریافت نکردند. گروه آلزایمری (D-Gal + Veh) که حیوانات بوسیله تزریق داخل صفاقی دی گالاکتوز با دوز ۱۲۰mg/kg به مدت ۴۵ روز دچار آلزایمر شدند (۱۳). گروه های تیمار (D-Gal + Sal10) و (D-Gal + Sal20)که هر کدام مانند گروه آلزایمر بوده علاوه بر اینکه روزانه به ترتیب دوز 10 mg/kgو 20 mg/kg سالویجنین را به صورت گاواژ دریافت می‌کردند. تیمار دارو در ساعت معینی از روز (۱۲-۱۰ قبل از ظهر) انجام گرفت سپس ۲ و ۷ روز بعد از آخرین گاواژ، تست یادگیری و حافظه با استفاده از دستگاه شاتل باکس (ساخت شرکت طب آزما - تبریز) انجام شد. دارو در سالین نرمال حل شده است. زمان‌های ۲ و ۷ روز برای ارزیابی میزان حافظه پس گذشت زمان کوتاه و بلند طبق مقالات استفاده شده است و هر دو نشان دهنده حافظه دراز مدت می‌باشد (۱۲، ۱۳).

روش آموزش و آزمون یادگیری

دستگاه شاتل باکس یک جعبه پلکسی گلاس دو قسمتی دارای یک بخش روشن و یک بخش تاریک است که ابعاد دو قسمت جعبه با هم برابر بوده (۲۰ cm ×۴۰×۲۰) و بوسیله یک دیوار به دوقسمت تقسیم شده و با یک درب گیوتینی متحرک به ابعاد۸ ×۸ cm که به صورت دستی باز و بسته می‌شود با هم ارتباط دارند. در کف هر دو بخش، میله‌های فلزی از جنس فولاد زنگ نزن به فاصله ۱ سانتی‌متر از هم قرار دارند که شوک از طریق آنها و در محفظه تاریک به پای حیوان وارد می‌شود. یک لامپ ۶۰ وات برای روشنایی محفظه روشن مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۵،۱۴).

مراحل آزمون حافظه و یادگیری احترازی غیرفعال

۱-سازگاری: ابتدا همه گروه‌های آزمایشی به دستگاه عادت داده شدند، به این ترتیب که موش‌های هر گروه یکی یکی درون دستگاه قرار گرفتند. ۵ ثانیه بعد درب بین دو محفظه برداشته و به مدت دو دقیقه به موش اجازه داده میشد،

آزادانه در دو محفظه تاریک و روشن رفت و آمد کند، که معمولاً در این مرحله موش به طور طبیعی تمایل داشت وارد محفظه تاریک شود. بلافاصله پس از ورود حیوان به قسمت تاریک، درب بسته و حیوان به قفس بازگردانده می‌شد.

۲- آموزش: ۳۰ دقیقه پس از عادت، مرحله اکتساب انجام شد. موش را در قسمت روشن جعبه گذاشته و دو دقیقه به حیوان مهلت داده می‌شد 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 میلی آمپر به مدت ۳ ثانیه به پای حیوان وارد می‌گردید. سپس موش از محفظه تاریک خارج و به قفس برگردانده می‌شد.

۳- آزمون بخاطرآوری: در آزمون به خاطر آوری که ۴۸ ساعت بعد از مرحله اکتساب صورت گرفت موش در قسمت روشن قرار گرفته، ۵ ثانیه بعد درب گیوتینی باز می‌گردید و زمانی که طول می‌کشید تا حیوان وارد قسمت تاریک شود به وسیله دستگاه بر حسب ثانیه سنجیده شد

و تحت عنوان (step through latency, STL) برای حافظه کوتاه مدت بیان گردید. یک هفته بعد از این مرحله تمام مراحل فوق برای تک تک حیوانات تحت آزمایش در گروه‌های مورد نظر تکرار می‌شد که تحت عنوان STL2 برای حافظه طولانی مدت نام‌گذاری شد. زمان اتمام آزمایش (CUT OF TIME) برای STL1 و STL2 هر دو ۳۰۰ ثانیه در نظر گرفته شد و حیواناتی که بیشتر از ۳۰۰ ثانیه در خانه روشن باقی می‌ماندند، ماکزیمم زمان برای آنها در نظر گرفته شد. سپس داده‌های جمع‌آوری شده از پارامترهای مذکور در هر یک از گروه‌های آزمایشی با استفاده از تست‌های آماری مناسب مورد مقایسه قرارگرفتند.

روش اندازه گیری سطح mRNA ژن BDNF در هیپوکمپ:

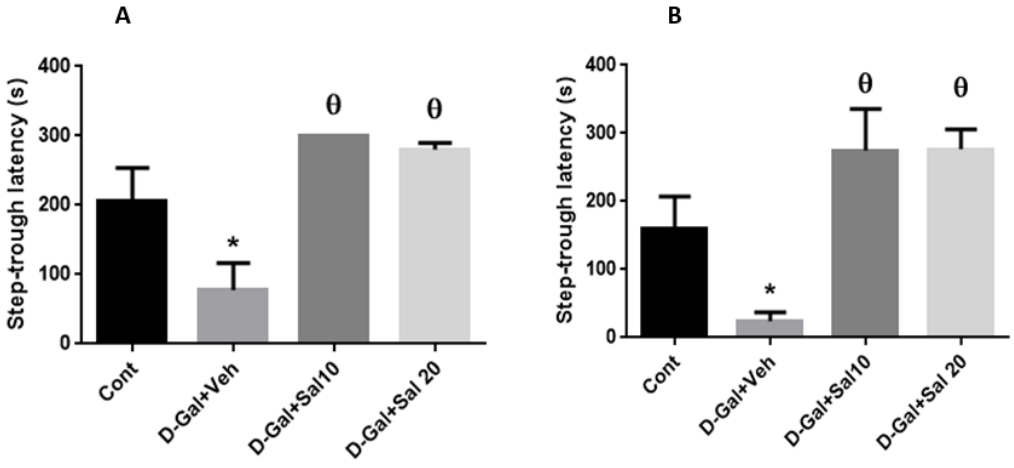
مغز موش‌های گروه‌های مختلف خارج شد و RNA طبق دستورالعمل کیت استخراج RNA پلاس مخصوص (سیناکلون- ایران) استخراج گردید. سپس RNA تهیه شده بلافاصله برای سنتز cDNA استفاده شده و یا در فریزر $80^{\circ}C-$ نگهداری می‌گردید. واکنش رونویسی معکوس با استفاده از آنزیم Reverse transcriptase صورت گرفت . هنگام تهیه cDNA از نمونه تخلیص شده پس از تایید میزان RNA تخلیص شده با ضریب بالا، حجمی شامل ۱۰۰۰ نانوگرم RNA برداشته و طبق دستورالعمل موجود در کیت cDNA تهیه شد. cDNA سنتز شده را در گروه‌های مختلف با استفاده از مستر میکس و در حضور و غیاب پرایمر اختصاصی BDNF تحت واکنش RT-PCR قرار گرفت. ژن Housekeeping در این مطالعه پروتیین ریبوزومی بود. طیف جذبی بر اساس میزان اتصال SYBR green به دوپلیکاسیون‌ها اندازه‌گیری شد . برای مقایسه نسبی بیان ژن‌ها از روش دلتا- دلتا CT و مقایسه نسبی آستانه سیکلینگ اندازه‌گیری شد .

تجزیه و تحلیل آماری:

تجزیه و تحلیل آماری بوسیله نرم افزار(San Diego, CA) Graphpad Prism Version 6 Software استفاده شد. برای بررسی وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها از آزمون آنالیز واریانس (Repeated measure one-way ANOVA) استفاده گردید. از پس آزمون توکی Tukey برای تعیین تفاوت بین هر دوگروه مختلف استفاده شد. در تمامی مراحل $P<0.05$ به عنوان سطح معنی‌دار بودن تفاوت‌ها در نظر گرفته شد.

نتایج

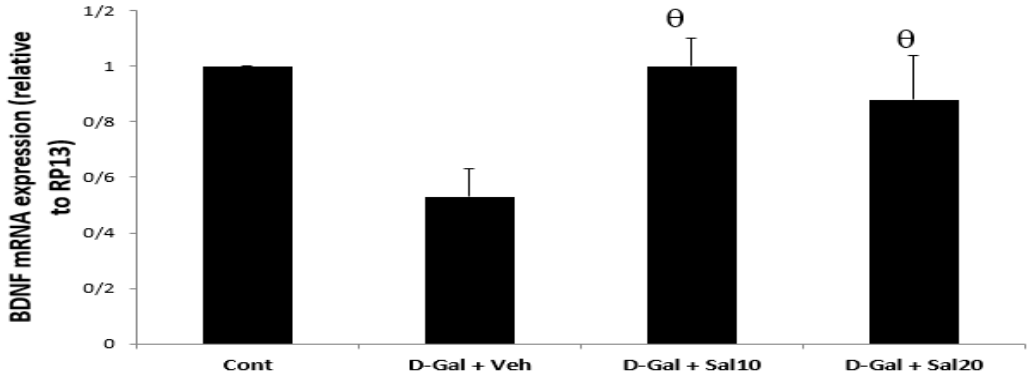
پس از پایان تیمار حیوانات، ابتدا حیوانات آموزش و سپس آزمون حافظه بر روی حیوانات انجام شد. آزمون حافظه در دو مرحله ۲ روز و ۷ روز بعد روی حیوانات انجام گرفت. نتایج مطالعه رفتاری در شکل ۱ آمده است. در هر دو دوره زمانی ۲ و ۷ روز مشخص شد که حیوانات گروه آلزایمر که با دی گالاکتوز تیمار شدند، مدت زمان کوتاه‌تری را نسبت به گروه کنترل در محفظه روشن گذرانده‌اند و به عبارت دیگر مدت زمان تاخیر برای عبور از ناحیه روشن به خاموش بطور معنی‌داری در گروه آلزایمر کوتاه‌تر است ($p<0.05$).دو روز و هفت روز پس از جلسه یادگیری، حیوانات آلزایمری دریافت کننده سالویجنین در هر دوز مدت زمان بیشتری را در محفظه روشن نسبت به گروه آلزایمر ماندند و زمان تاخیر در ورود به محفظه تاریک بطور معنی‌داری نسبت به گروه آلزایمر افزایش یافت . ($p<0.05$).



شکل۱: آزمون حافظه توسط دستگاه شاتل باکس ۲ روز (A) یا ۷ روز (B) پس از آخرین جلسه آموزش و یادگیری.
Cont: بدون القاء آلزایمر، D-Gal+Veh: گروه آلزایمر دریافت کننده DMSO ۰.۱ درصد. D-Gal+Sal 10, 20: گروهای آلزایمری که به ترتیب ۱۰mg/kg و ۲۰ mg/kg سالویجنین را دریافت می کردند. (p<۰.۰۵) * هنگامی که با گروه کنترل مقایسه می شود. (p<۰.۰۱) θ هنگامی که با گروه D-Gal+Veh مقایسه می شود.

نتایج Real time PCR نشان داد که میزان بیان mRNA ژن BDNF در گروه آلزایمرکه فقط با دی-گالاکتوز تیمار شدند به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش می‌یابد (p<۰/۰۵).

همچنین تیمار حیوانات آلزایمری با دوز ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم سالویجنین توانست به طور معنی‌داری میزان بیان mRNA ژن BDNF را در گروههای تیمار نسبت به گروه کنترل افزایش دهد (شکل ۲).



شکل **Error! No text of specified style in document.**۲: میزان بیان mRNA ژن BDNF در گروههای مختلف آزمایش.
Cont : بدون القاء آلزایمر، D-Gal+Veh: گروه آلزایمر بدون دریافت دارو. D-Gal+Sal 10, 20: گروههایی که آلزایمری بودند و دوزهای به ترتیب ۱۰mg/kg و ۲۰mg/kg سالویجنین را دریافت می‌کردند. (p<۰.۰۵) * هنگامی که با گروه کنترل مقایسه می شود. Θ (p<۰.۰۱) هنگامی که با گروه D-Gal+Veh مقایسه می‌شود.

بحث

نتایج حاصل از بررسی رفتار اجتنابی غیر فعال نشان داد که تجویز عصاره سالویجنین به مدت یک ماه به طور معنی‌داری زمان تاخیر در ورود موش‌ها به اتاق تاریک را در مقایسه با حیوانات نرمال و گروه کنترل افزایش می‌دهد. همچنین، نتایج این مطالعه نشان داد که در حیوانات آلزایمری سطح بیان فاکتور رشد مشتق از مغز BDNF کاهش می‌یابد و تیمار حیوانات با سالویجنین موجب بهبود حافظه و افزایش بیان mRNA ژن BDNF می‌شود. آلزایمر شایع‌ترین علت زوال عقل

است و با پیر شدن جمعیت ایران تعداد بیشتری را در آینده مبتلا خواهد کرد. امروزه روشن شده است که می‌توان با شروع آلزایمر را به تاخیر انداخت و پیشرفت آن را کند کرد. گیاهان دارویی و ترکیبات حاصل از آنها معمولا در موارد زیادی توانسته‌اند به عنوان یک درمان جایگزین و مکمل در نظر گرفته می‌شوند. کاربرد گیاهان دارویی از دیرباز در ایران و دیگر کشورها رایج بوده است.در زمان‌های مختلف میزان مصرف این گیاهان با مقتضیات زمانی، دست خوش تغییرات زیادی گردیده است.

اگر چه مصرف این گیاهان با توسعه و پیشرفت داروهای صناعی و شیمیایی که به اشکال گوناگون تولید می‌شوند محدود شده، اما امروزه در تمام دنیا توجه خاصی به این منابع برای درمان بیماران بوجود آمده است، به گونه‌ای که منابع علمی داروسازی، قرن بیستم را قرن بازگشت به طبیعت و قرن استفاده از داروهای گیاهی نام نهاده‌اند (۱۶). تاکنون گیاهان دارویی مختلفی برای تقویت حافظه و درمان فراموشی مورد استفاده قرار گرفته‌اند که از آن میان می‌توان به کنجد، آب انگور قرمز (۱۷)، ریشه بوزیدان، زعفران، زنجبیل (۱۸)، جینگو بیلوبا (۱۹)، علف چای (۲۰)، نیز اشاره کرد.

در مطالعه عیدی و همکاران نشان داده شد که عصاره برگ‌های مریم گلی می‌تواند باعث بهبود حافظه در موش شود. یکی از ترکیبات اصلی در انواع عصاره‌های این گیاه فلاوونوئید سالویجنین است (۲۱). در کارآزمایی بالینی دیگری از عصاره مریم گلی در درمان بیماران مبتلا به آلزایمر خفیف تا متوسط انجام گرفت نشان داده شده است که عصاره مریم گلی به طور چشمگیری در کاهش شدت علائم آلزایمر موثر بوده و در طول چهارماه به طور موثری نه تنها روند پیشرفت شدت علائم را جلوگیری کرده است، بلکه در این مدت باعث کاهش شدت علائم شده است (۲۲).

مطالعات بیانگر این واقعیت هستند که مصرف ترکیبات فلاونوئیدی پتانسیل درمان بیماری‌های شناختی و آلزایمر را دارد و مصرف روزانه آنتی اکسیدان ها می‌تواند از پیری مغز جلوگیری نماید (۲۳). بر خلاف اینکه داده‌های زیادی گواه بر اثرات بهبود دهندگی حافظه و یادگیری از گیاهان دارای فلاوونوئیدها موجود است در مورد اثر خالص این ترکیبات مطالعات اندک است. در مطالعات گذشته نشان داده شده است که فیسیتین (Fisitin) که بطور خاص در توت فرنگی دیده می‌شود موجب بهبود حافظه و یادگیری و نیز عملکرد شناختی در موش شده است (۲۴). علاوه بر این، مطالعه دیگری نشان داده است که مصرف فوستین (۲۵)، نوبیلیتین (۲۶) و اسکوتلاریا (۲۷) هم می‌توانند موجب بهبود عملکرد حافظه در حیوانات آزمایشگاهی شود.

اثر فلاوونوئیدها در کنترل و بهبود حافظه تاکنون در مطالعات زیادی گزارش شده است. نشان دادند که تجویز کاتچین افزایش حفظه در آزمایش Y ماز را موجب میشود به طوریکه این ترکیب باعث کاهش استرس اکسیداتیو و تاخیر در عملکرد مغز می‌گردد (۲۰). مریم گلی یکی از گیاهان است که اثرات مفیدی بربهبود حافظه یادگیری در شرایط مختلف دارد.

این مطالعات هم راستا با نتایج حاصل از این مطالعه می‌باشد و تایید می‌کنند که فلاوونوئیدها می‌توانند باعث بهبود عملکرد مغز شوند. گزارش‌های وجود دارد که نشان می‌دهد بخش بزرگی از اثرات بهبود دهندگی فلاوونوئیدها بر روی اعمال شناختی مغز از طریق افزایش تولید BDNF صورت می‌گیرد. این نوروتروفین در تبدیل سیگنال‌های نورونی به تغییرات ساختاری که در درازمدت در مغز زخ می‌دهد نقش اساسی دارد (۲۸). در مطالعه نیز افزایش سطح BDNF را بعنوان یک مکانیزم احتمالی درگیر در این اثرات نشان داده شده است.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه بطور کلی نشان می‌دهد که تجویز سالویجنین به حیوانات آلزایمری شده می‌تواند آسیب حافظه و یادگیری ناشی از دی – گالاکتوز را تا حدود زیادی بهبود بخشد.

علاوه بر این، نشان داده شد که این فلاوونوئید می‌تواند موجب افزایش بیان پروتئین BDNF شود که نوعی نوروترفین است و بخشی از اثرات آن از طریق بیان این نوروتروفین است موجب بهبود عملکرد شناختی مغز می شود.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد خانم فاطمه سنجری‌پور می‌باشد. نویسندگان از همکاری آقای مجتبی‌قبادی و سرکارخانم زینب حفیظی تشکر و قدردانی می‌نمایند.

References:

1-Wong KK, Ho MT, Lin HQ, Lau KF, Rudd JA, Chung RC, et al. ***Cryptotanshinone, an acetylcholinesterase inhibitor from Salvia miltiorrhiza, ameliorates scopolamine-induced amnesia in Morris water maze task***. Planta Med 2010; 76(3): 228-34.

2-Alldredge BK, Koda-Kimble MA, Young LY, Kradjan WA, Guglielmo BJ. ***Applied therapeutics: the clinical use of drugs***. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins. 2009; 101–103.

3-Atrens DM, Curthoys IS. ***The neurosciences and behavior***1982: (49-9). 2nd ed. Sydney: Academic Press

4-Power AE. ***Muscarinc cholinergic contribution to memory consolidation, with attention toin- volvement of the basolateral amygdale***. Curr Med Chem 2004; 11(8): 987-96.

5-Golde TE. ***Disease modifying therapy for AD?*** J Neurochem 2006; 99(3):707-689.

6-Johannsen, P. "***Medical treatment of Alzheimer's disease.***" *Ugeskrift for laeger* 168.40 (2006): 3424-3429.

7-Eidi M, Eidi A, Bahar M. ***Effects of Salvia officinalis L.(sage) leaves on memory retention and its interaction with the cholinergic system in rats***. Nutrition 2006; 22(3): 321-6. [Persion]

8-Hedge IC. Flora Europaea In: Tutin TG, Heywood VH, Burgess NA, Moore DM, Valentine DH, Walters SM, Webb DA (eds.), Salvia L. Cambridge University Press. Cambrige. 1972, pp: 188 - 92.

9-Chalchat JC, Michet A, Pasquier B. ***Studyof clones of Salvia officinalis L. yields andchemical composition of essential oil.*** Flav Frag J 1998; 13(1): 68-70.

10- Kamatou GP, Makunga NP, Ramogola WP, Vilgoen AM. ***South African Salvia species: A review of biological activities and phytochemistry***. J Ethnoph 2008; 119(3): 664-72.

11- Bloomfield, Victor A., Donald M. Crothers, and Ignacio Tinoco. ***Physical chemistry of nucleic acids.*** HarperCollins Publishers, 1974.

12- Hua X, Lei M, Ding J, Han Q, Hu G, Xiao M. ***Pathological and biochemical alterations of astrocytes in ovariectomized rats injected with D-galactose: a potential contribution to Alzheimer's disease processes.*** Exper neur 2008; 210(2): 10:709-18.

13- Harooni HE, Naghdi N, Sepehri H, Rohani AH. ***Intra hippocampal injection of im- paired acquisition, consolidation and retrieval of inhibitory avoidance learning and memory in adult male rats.*** Behav Brain Res 2007; 188(1): 71-7.

14- Mereu G, Fà M, Ferraro L, Cagiano R, An- tonelli T, Tattoli M. ***Prenatal exposure to a can- nabinoid agonist produces memory deficits linked to dysfunction in hippocampal long-term potentiation and glutamate release***. Proc Nati Acad Sci 2003; 100(8): 4915-20.

15- Beheshti-Poor N, Jamali Moghadam N, Soleimani S, Haghnegahdar A, Salehi A. ***Assess- ment of knowledge, belief and function of peo- ple about herbal medicines who referred to one of clinics dependent to medical university of Shiraz in 2010***. J Med Plants 2011; 1(4): 53-9. [Persian]

16- Yang J, Martinson T, Liu R. ***Phytochemical profiles and antioxidant activities of wine grapes***. Food Chem 2009; 116(1): 332-39.

17- Felipe c, Fonsêca k, Barbosa A, Bezerra J, Neto M. ***Alterations in behavior and memory induced by the essential oil of Zingiber officinale Roscoe (ginger) in mice are cholinergic-dependent***. J Med Plant 2008; 2(7): 163-70.

18- Søholm B. ***Clinical improvement of memory and other cognitive functions by Ginkgo biloba: review of relevant literature***. Adv Ther 1998; 15(1): 54-65.

19- El-Sherbiny DA, Khalifa AE, Attia AS, Eldenshary EE. ***Hypericum perforatum extract demonstrates antioxidant properties against elevated rat brain oxidative status induced by amnestic dose of scopolamine.*** Pharmacol Biochem 2003; 76(3): 525-33.

20- Tildesley NT, Kennedy DO, Perry EK, Ballard CG, Savelev SA, Wesnes KA, et al. ***Salvia lavandulaefolia (Spanish sage) enhances memory in healthy young volunteers***. Pharma Biochem Behav 2003; 75(3): 669-74.

21- Spencer JP. ***The impact of fruit flavonoids on memory and cognition***. British J Nutr 2010; 104: 40-7.

22- Maher P, Akaishi T, Abe K. ***Flavonoid fisetin promotes ERK-dependent long-term potentiation and enhances memory***. Proc National Academy Sci 2006; 103(44):16568-73.

23- Jin CH, Shin EJ, Park JB, Jang CG, Li Z, Kim MS, et al. ***Fustin flavonoid attenuates β- amyloid (1–42)- induced learning impairment***. J neur res 2009; 87(16): 3658-70.

24- Nakajima A, Yamakuni T, Haraguchi M, Omae N, Song SY, Kato C, et al. ***Nobiletin, a citrus flavonoid that improves memory impairment, rescues bulbectomy-induced cholinergic neurodegeneration in mice***. J pharma sci 2007; 105(1): 122-6.

25- Shang Y, Cheng J, Qi J, Miao H. ***Scutellaria flavonoid reduced memory dysfunction and neuronal injury caused by permanent global ischemia in rats***. Pharm Biochem Behav 2005; 30: 67-73.

26- Tanaka JI, Horiike Y, Matsuzaki M, Miyazaki T, Ellis-Davies GC, Kasai H. ***Protein synthesis and neurotrophin-dependent structural plasticity of single dendritic spines***. Sci 2008; 319(5870): 1683-7.

The effect of salvigenin on learning, memory and mRNA expression rate of Brain-derived neurotrophic growth factor (BDNF) in maleAlzheimer disease model rat hippocampus

Fatemeh Sanjarani [1], Mansour Esmaeilidehaj [2], Fatemeh Zareh-Mehrjerdi [3], Tayebe Eghbali [4], Mohammad Ebrahim Rezvani [5]

[1-5] Dept. Physiology, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

Received: 24 Dec 2016 **Accepted:** 20 Jan 2018

Abstract

Introduction: Effects of many *flavonoids* have been studied on memory, learning and improvement of Alzheimer. Many flavonoids are effective in the improvement of Alzheimer. Since no study has been conducted on the effect of salvigenin on memory and learning, our aim was to examine the effect of this flavonoid.

Methods: Intraperitoneal injection of D-galactose at a dose of 120 mg / kg was used for 45 for creation of Alzheimer disease model. In this experimental study, 28 male wistar rats weighing approximately 200-250 grams were divided into 4 groups with 7 members, including: normal group: rats that received no drugs, control group: alzheimer disease model rat, which had been stricken to Alzheimer by intraperitoneal injection of D-galactose at a dose of 120 mg/kg and 1, 2 salvigenin groups: in which each group was the same as the control group. Furthermore, they received daily 10 or 20 mg/kg of salvigenin by gavage. In order to evaluate memory, shuttle box and passive avoidance learning was used 2 and 7 days after learning. To assess the mRNA expression rate of BDNF, the entire RNA of hippocampus was isolated and after synthesis of Complementary DNA (cDNA), real time and PCR were done and relative expression of mRNA was evaluated.

Results: The results showed that daily administration of different doses of salvigenin can slow down Alzheimer's induction. The delay duration in entering the dark compartment in trained rats in the treated group was significantly more than the control group. mRNA expression rate of BDNF in salvigenin receiving groups was more than control group.

Conclusion: Generally it can be concluded that salvigenin can improve the memory caused by Alzheimer and also increase mRNA expression rate of BDNF in Alzheimer's rats.

Keywords: Salvigenin extract, Alzheimer, Learning, Memory, Rat

This paper should be cited as:
RezvaniM E, Sanjarani F, Esmaeilidehaj M, Eghbali T, Mehrjerdi F Z **The effect of salvigenin on learning, memory and mRNA expression rate of Brain-derived neurotrophic growth factor (BDNF) in maleAlzheimer disease model rat hippocampus.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2017; 25(9): 994-1002.

***Corresponding author: Tel: 09131566295, email: erezvani@yahoo.com**