مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره بیست و ششم، شماره یازدهم، بهمن ۱۳۹۷
تاریخ دریافت:۱۳۹۶/۸/۳
تاریخ پذیرش:۱۳۹۶/۱۰/۹

اثر تزریق عصاره الکلی فرولا اسزوویتسیانا بر روی نقایص شناختی و پرواکسیداسیون القاء شده توسط اتیدیوم بروماید در مدل تجربی MS

سمیه عبدی[۱]، حمیرا حاتمی نعمتی*[۲]، رقیه خاکپای[۳]، غلامرضا دهقان[۴]

مقاله پژوهشی

مقدمه: هدف از مطالعه حاضر، اثر ریزتزریق کوتاه مدت عصاره فرولااسزوویتسیانا بر روی حافظه فضایی و پروکسیداسیون لیپیدی در هیپوکامپ مدل‌های تجربی مالتیپل‌اسکلروزیس (MS) است.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی تعداد ۳۵ سر رت نر نژاد ویستار به طور تصادفی به پنج گروه هفت‌تایی شامل کنترل، شاهد، مدل MS، و دو گروه تیمار عصاره تقسیم شدند. در گروه مدل تجربی MS، القای MS با تزریق سم اتیدیوم‌بروماید به هیپوکامپ انجام گرفت. یک هفته پس از القای MS، دو گروه تیمار به مدت ۳ روز عصاره فرولااسزوویتسیانا را با دوزهای ۵g/ratμ و ۱۰g/ratμ دریافت کردند. پس از اتمام دوره تیمار، جهت سنجش حافظه فضایی، آزمون ماز آبی موریس انجام گرفت. در خاتمه، بعد از نمونه‌برداری از هیپوکامپ هر دوطرف و سنجش مالون‌دی‌آلدئید (MDA)، داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد میانگین (Mean±S.E.M) ارائه گردید و اختلاف معنی‌دار توسط آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) با آزمون تعقیبی Student-Newman-Keuls به وسیله نرم‌افزار Instat3 مورد سنجش قرار گرفت.

نتایج: نتایج نشان داد که مسافت طی شده (۱۰۲۲/۴۴±۵۳/۲۹) و زمان (۴۱/۳۰±۳/۲۹) رسیدن به سکوی پنهان در گروه مدل‌های MS نسبت به مسافت طی شده (۸۸۵/۹۴±۲۹/۵۶) و زمان (۳۶/۲۶ ±۰/۶۵) گروه کنترل سالم افزایش یافت (P<۰/۰۰۱) و تیمار کوتاه مدت عصاره فرولااسزوویتسیانا، مسافت (۸۳۸/۳۹ ±۲۴/۱۶) و زمان (۳۹/۸۷ ±۱/۲۴) رسیدن به سکو را در این مدل‌ها کاهش داد (P<۰/۰۰۱). میزان MDA مدل‌های تجربی MS (۳/۸ ±۰/۵۱) نسبت به گروه کنترل (۰/۶۸±۰/۱۳) افزایش یافت (P< ۰/۰۰۱) و در مدل‌های MS تحت تیمار با عصاره فرولا (۰/۳۴ ±۰/۰۴)کاهش یافت (P< ۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: تیمار عصاره فرولااسزوویتسیانا با کاهش میزان محصولات پروکسیداسیون لیپیدی قادر به ممانعت از کاهش روند یادگیری و حافظه در مدل‌های تجربی MS است.

واژه‌های کلیدی: هیپوکمپ، مالتیپل اسکلروزیس، مالون‌دی‌آلدئید، فرولااسزوویتسیانا، حافظه فضایی، رت

ارجاع: عبدی سمیه، حاتمی نعمتی حمیرا، خاکپای رقیه، دهقان غلامرضا. **اثر تزریق عصاره الکلی فرولا اسزوویتسیانا بر روی نقایص شناختی و پرواکسیداسیون القاء شده توسط اتیدیوم بروماید در مدل تجربی MS**. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۳۹۷؛ ۲۶ (۱۱): ۱۰۰۸-۱۸.

۱- کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز،ایران
۲- دانشیار فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، ایران
۳- دانشیار فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، ایران
۴- استاد بیوشیمی، گروه زیست شناسی جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، ایران
*(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۹۱۴۴۰۰۶۲۰۳، پست الکترونیکی: homeirahatami@yahoo.com، کد پستی : ۵۱۶۶۶۱۶۴۷۱

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-24]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i11.554]

مقدمه

مالتیپل اسکلروزیسMultiple sclerosis (MS) بیماری مزمنی است که از نظر پاتولوژی با التهاب، از دست دادن میلین، استرس اکسیداتیو، آسیب آکسونی در نواحی متعدد ماده سفید سیستم اعصاب مرکزی Central nervous system (CNS) مشخص می‌شود (۱). میلیناسیون آکسون‌ها در CNS، هدایت جهشی و سریع پیام‌های الکتریکی را فراهم می‌آورد (۲). نقایص شناختی از جمله توجه Attention، یادگیریLearningو حافظه Memory؛ در ۵۰ درصد بیماران مبتلا به MS گزارش شده است (۴، ۳). تحقیقات صورت گرفته نشان می‌دهند که علاوه بر ماده سفید، بخش‌های خاکستری مغز به ویژه هیپوکامپ نیز دچار دمیلیناسیون و تغییرات ساختاری می‌گردند (۵).

استرس اکسیداتیو نقش کلیدی در پاتوفیزیولوژی MS ایفا می‌کند (۶). مطالعات مختلفی بیان می‌کنند که تولید گونه‌های باز فعال اکسیژن (ROS) با اختلال تثبیت حافظه در MS و مدل‌های تجربی MS در ارتباط می‌باشد (۷). سلول‌های فعال مغزی به دلیل مصرف بالای اکسیژن، در ریسک مشخصی از خطر آسیب‌دیدگی توسط رادیکال‌های آزاد قرار دارند (۶،۸). اتیدیوم بروماید (EB) به منظور القای دمیلیناسیون سمی در جوندگان مورد استفاده قرار می‌گیرد (۹،۱۰). تزریق موضعی EB به CNS، اولیگودندروسیت‌ها و آستروسیت‌ها را به‌طور انتخابی از بین می‌برد و دمیلیناسیون کانونی در CNS را القا می‌کند (۱۲، ۱۱).

فرولا اسزوویتسیانا Ferula szowitsiana یکی از گیاهان دارویی جنس فرولا است که اثرات فارماکولوژیکی زیادی از عصاره این گیاه گزارش شده که شامل ضدسرطان (۱۳)، آنتی‌اکسیدانت (۱۴)، ضدالتهابی (۱۵)، ضد میکروبی (۱۶)، و فعالیت‌های آنتی‌بیوتیک (۱۷) می‌باشد. از محتویات مهم عصاره این گیاه می‌توان به گالبانیک اسید Galbanic acid، اوراپتن Auraptene و آمبلی‌پرنین Umbelliprenin اشاره کرد که هرکدام خواص مربوط به خود را دارند (۱۸). همان‌گونه که اشاره شد MS از دسته بیماری‌های خود ایمنی سیستم عصبی مرکزی با اتیولوژی ناشناخته است که در آن میلین رشته‌های عصبی تخریب می‌شود. از طرفی فرولا اسزوویتسیانا با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی که دارد انتظار می‌رود با گرفتن رادیکال‌های آزاد، فعالیت‌های یادگیری و حافظه را تحت تأثیر قرار دهد. بنابراین به نظر می‌رسد عصاره فرولا اسزوویتسیانا به واسطه تعدیل وضعیت ردوکس سلول‌های تحت شرایط استرس اکسیداتیو، به ویژه سلول‌های مغزی، اثرات حفاظتی خود را بر سیستم اعصاب مرکزی و عملکرد شناختی در شرایط پاتولوژیک اعمال می‌کند. با این وجود تا کنون اثر ریزتزریق عصاره فرولا اسزوویتسیانا بر روی عملکرد حافظه فضایی و پارامتر های استرس اکسیداتیو در مدل‌های تجربی MS مطالعه نشده است. از این رو در مطالعه حاضر بر آن شدیم تا اثر ریز تزریق سم EB به عنوان القاء کننده مدل تجربی MS با دو دوز متفات را به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی بر عملکرد حافظه فضایی و وضعیت اکسیداتیو هیپوکامپ مدل‌های تجربی MS با استفاده از آزمون ماز آبی موریس و سنجش یکی از مهمترین پارامترهای استرس اکسیداتیو مورد بررسی قرار دهیم.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی گیاه فرولا اسزوویتسیانا مورد استفاده قرار گرفت که از آذربایجان شرقی جمع‌آوری شد. برای تهیه عصاره ابتدا ریشه فرولا اسزوویتسیانا با استفاده از آسیاب مکانیکی پودر گردید. سپس با استفاده از حلال اتانولی فرولا اقدام به عصاره‌گیری به روش سوکسله شد. در این روش عصاره‌گیری ۱۰ گرم پودر ریشه فرولا در ۳۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰٪ به مدت سه روز خیسانده شد. پس از صاف کردن محلول به‌دست آمده با صافی، حلال توسط دستگاه اواپوراتور Evaporator تحت خلاء و در دمای ۶۰-۵۰ ˚C حذف شد. عصاره به‌دست آمده تا زمان استفاده در یخچال و در دمای زیر صفر درجه نگه‌داری شد (۱۹). در این مطالعه تعداد ۳۵ سر رت نر نژاد ویستار با محدوده وزنی (۵۰± ۲۵۰) گرم از حیوان خانه پاستور تهران خریداری شد و به آزمایشگاه فیزیولوژی دانشکده علوم دانشگاه تبریز انتقال یافت. حیوانات قبل و در طول دوره آزمایش در شرایط سیکل روشنایی-تاریکی ۱۲ ساعته و دمای

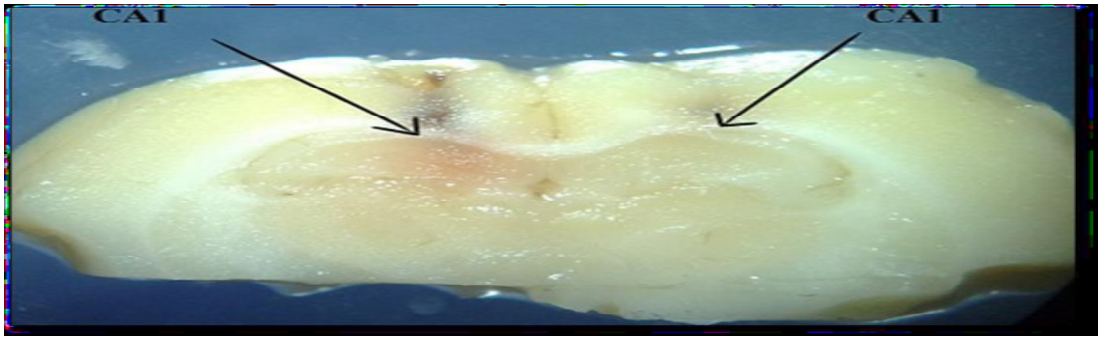
[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-24]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i11.554]

۲۲±۲ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری می‌شدند و دسترسی آزادانه به آب و غذا داشتند. کلیه آزمایشات روی حیوانات با رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی انجام شد.

رت‌ها به طور تصادفی به پنج گروه هفت‌تایی ذیل تقسیم شدند: I- گروه کنترل (رت‌های سالم و بدون جراحی تحت تست حافظه فضایی)، II- گروه شاهد (اعمال جراحی و دریافت حلال و تحت تست حافظه فضایی)، III- گروه اتیدیوم بروماید (۰/۰۱٪) + سالین، IV- گروه اتیدیوم بروماید (۰/۰۱٪) + عصاره الکلی فرولا اسزوویتسیانا با دوز ۵g/ratμ، V- گروه اتیدیوم بروماید (۰/۰۱٪)+عصاره الکلی فرولا اسزوویتسیانا با دوز ۱۰g/ratμ. رت‌ها به صورت عمیق با تزریق داخل صفاقی کتامین (۱۰۰mg/kg) و زایلازین (۵ mg/kg) بیهوش شده (۲۰) و در دستگاه استرئوتاکس (Stoelting, USA) در موقعیت جمجمه مسطح مستقر گردیدند (۱۱). پوست ناحیه سر به حداقل میزان برش داده شده، پس از کنار زدن بافت‌های پوششی اطراف، نواحی برگما و لامبدا شناسایی شده و بر اساس مختصات ذکر شده در اطلس پاکسینوس، ناحیه مربوط به CA_1 هیپوکامپ در سطح جمجمه به صورت دوطرفه مشخص گردید (DV=+۲/۷; ML=±۲/۲; AP=-۳/۸) (۲۱) کانول‌گذاری انجام شد. رت‌های نر در گروه‌های III،IV وV تحت جراحی قرار گرفتند و به مدت ۷-۵ روز دوره بهبودی را طی نمودند. ریز تزریق داروها با استفاده از سرنگ همیلتون ۱۰lμ انجام گرفت. برای القای مدل تجربی MS، سم اتیدیوم بروماید به صورت تک دوز (محلول۰/۰۱٪ اتیدیوم بروماید در سالین۰/۹ ٪ استریل) و در حجم۳ میکرولیتر و با سرعت۱ میکرولیتر در دقیقه به صورت دو طرفه به تشکیلات هیپوکامپ (CA_1) تزریق شد (۱۱). رت‌های گروه‌های تیمار با فرولا اسزوویتسیانا، یک هفته بعد از القای مدل تجربی MS، عصاره فرولا اسزوویتسیانا را با دوزهای ۵g/ratμ و ۱۰ g/ratμ به مدت ۳ روز و به صورت ریزتزریق دریافت نمودند.

عصاره الکلی فرولا اسزوویتسیانا به صورت محلول در سالین ۹٪ استریل و در حجم ۳ میکرولیتر در دقیقه به صورت دو طرفه به تشکیلات هیپوکامپ (ناحیه CA_1) تزریق شد (تمامی تزریق‌ها در فاصله قبل از ظهر انجام می‌گرفت) (۱۱،۲۲،۲۳). پس از اتمام دوره تیمار، از هر یک از گروه‌های آزمایشی یک رت به صورت تصادفی انتخاب گردید. حیوانات رنگ قرمز خنثی را به منظور تعیین محل دقیق کانول‌گذاری به صورت ریز تزریق دریافت نمودند و پس از بیهوشی، سر آن‌ها با استفاده از گیوتین جدا شد و بافت مغز آن‌ها پس از شست وشو با سالین نرمال در محلول فرمالین۲۰٪ قرار گرفت و برای تأیید بافت‌شناسی ماکروسکوپیک به آزمایشگاه بافت‌شناسی منتقل گردید (شکل۱).



شکل ۱: تأیید بافت‌شناسی ماکروسکوپی به منظور تعیین محل دقیق کانول‌گذاری. ناحیه CA_1 هیپوکامپ پس از ریز تزریق دوطرفه رنگ قرمز خنثی در تصویر مشخص است.

جهت ارزیابی اثرات تخریبی ریز تزریق سم اتیدیوم‌بروماید و نیز اثرات حفاظتی عصاره فرولا اسزوویتسیانا بر حافظه و یادگیری فضایی، روش ماز آبی موریس مورد استفاده قرار گرفت. این دستگاه از یک حوضچه استوانه‌ای شکل سیاه رنگ (به قطر ۱۳۶ سانتیمتر و ارتفاع۶۰ سانتی‌متر) با یک سکوی پنهان به قطر ۱۰ سانتیمتر تشکیل شده است. ۲۴ ساعت پس از اتمام

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-24]
[DOI: 10.18502/ssu.v26i11.554]

دوره تیمار، هر رت به مدت ۵ روز و هر روز یک نوبت (هر نوبت شامل ۴ تجربه) از ۴ ربع حوضچه به طور تصادفی تحت آزمایش قرار گرفت. فضای اطراف حوضچه با ۴ جهت اصلی شمال، جنوب، شرق و غرب مشخص شد تا ۴ موقعیت آلترناتیو برای شروع سنجش ماز آبی موریس فراهم شود. به هر رت ۶۰ ثانیه اجازه شنا برای یافتن سکو داده شد. اگر رت در پایان ۶۰ ثانیه موفق به یافتن سکو نمی‌شد از آب خارج می‌گردید و بر روی سکو قرار داده می‌شد. در پایان هر تجربه رت‌ها به مدت ۱۵ ثانیه بر روی سکو استراحت کردند. زمان سپری شده برای یافتن سکو و مسافت طی شده برای رسیدن به سکو، به‌عنوان پارامترهای ارزیابی یادگیری و حافظه فضایی ثبت گردید. لازم به ذکر است که سرعت شنای حیوانات نیز به عنوان شاخصه‌ای از توانایی حرکتی حیوانات مورد ارزیابی قرار گرفت (سنجش ماز آبی موریس همیشه در فاصله قبل از ظهر انجام می‌گرفت) (۲۴).

۲۴ ساعت بعد از آخرین روز سنجش ماز آبی موریس، تمامی رت‌ها با تزریق داخل صفاقی کتامین (۱۰۰mg/kg) و زایلازین (۵ mg/kg) بیهوش شدند(۲۰). سپس سر توسط گیوتین جدا شد و بلافاصله مغز خارج گردید و بخش هیپوکامپ به دقت تشریح و جدا شد و توسط سالین ۰/۹٪ شستشو داده شد. هیپوکامپ جدا شده بلافاصله در نیتروژن مایع فریز گردید و تا زمان تهیه هموژن در فریزر۸۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد (۸،۲۰). به منظور تهیه هموژن روی هر یک از نمونه‌ها محلول سرد KCL ۱/۱۵ % با نسبت (w/v ۱:۱۰) اضافه گردید. سپس با استفاده از هموژنایزر مکانیکی هموژن بافت‌های هیپوکامپ تهیه گردید و بعد از سانتریفوژ کردن دردور g ۲۰۰۰۰ به مدت۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، محلول رویی استخراج شد تا برای آنالیز بیوشیمیایی مورد استفاده قرار گیرد (۸).

مالون‌دی‌آلدئید (MDA) حاصل تجزیه پلی‌اسیدهای چرب غیراشباع است. تولید این ماده به عنوان بیومارکری برای سنجش میزان پروکسیداسیون لیپیدی مورد استفاده قرار می‌گیرد. ۳ میلی‌لیتر اسیدفسفریک ۱٪ و ۱ میلی‌لیتر محلول آبی تیوباربیتوریک اسید ۰/۶٪ (w/v) به ۰/۵ میلی‌لیتر محلول رویی اضافه گردیده و به مدت ۴۵ دقیقه در حمام آب جوش حرارت دید. پس از سرد شدن،۴ میلی لیتر n-بوتانول به مخلوط اضافه شد و پس از به هم زدن به مدت ۱۰ دقیقه در دور g ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد. سپس جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۳۵ نانومتر توسط دستگاه اتوآنالیزور (Alcyon, USA) اندازه‌گیری شد. غلظت‌های ماده حاصله از واکنش MDA با تیوباربیتوریک اسید (TBARS) با استفاده از منحنی استاندارد MDA محاسبه شد که بر حسب nmol/mg پروتئین بیان شده است (۸).

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های مربوط به سرعت شنا، مدت زمان یافتن سکو، مسافت شنا و میزان محصولات پروکسیداسیون لیپیدی (TBARS)، به صورت میانگین ± خطای استاندارد میانگین (Mean±S.E.M) ارائه گردید و اختلاف معنی‌دار توسط آنالیز واریانس یک طرف(ANOVA) و آزمون تعقیبی Student-Newman-keuls به وسیله نرم افزار Instat3 مورد بررسی قرار گرفت .تفاوت‌ها در سطح (P< ۰/ ۰۵) معنی‌دار تلقی شد.

ملاحظات اخلاقی

پروپوزال این تحقیق توسط دانشگاه تبریز با کد ۴۰۹ تایید شده است. روش‌های اخلاقی رفتار با حیوانات منطبق با اصول اخلاقی و بین المللی کار با حیوانات آزمایشگاهی زیر نظر دانشگاه تبریز رعایت گردیده است.

نتایج

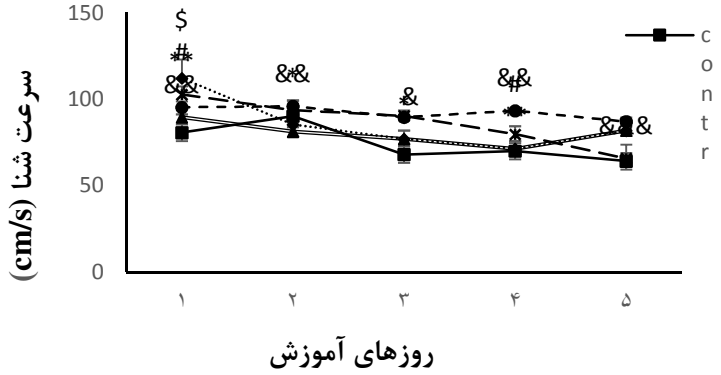
نتایج حافظه فضایی

برای بررسی فرآیند یادگیری و حافظه فضایی در طی روزهای آزمایش، نتایج آماری حاصل از میانگین سرعت شنا، میانگین زمان سپری شده برای یافتن سکو و میانگین مسافت طی شده برای رسیدن به سکو در حیوانات گروه‌های مختلف طی روزهای آزمایش مورد مطالعه قرار گرفت. همان‌طور که در نمودار ۱ نشان داده شده است، سرعت شنای حیوانات بین گروه‌های EB3R+D5F (۹۱/۶۳±۲/۴) و EB3R+D10F (۸۶/۳۹±۵/۲۹) با گروه EB3R (۸۰/۱۶±۳/۷۵) در طی آزمون ماز آبی موریس به صورت معنی‌داری افزایش یافته است (P < ۰/۰۵). سرعت

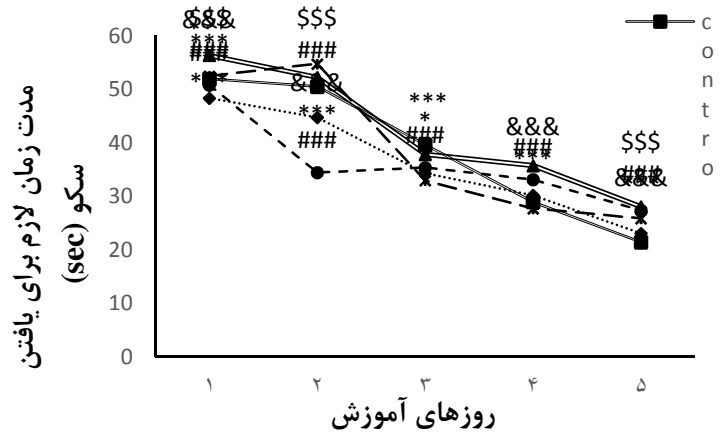
[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-24]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i11.554]

شنای حیوانات درگروه EB3R+D5F نسبت به EB3R+D10F در روز چهارم آموزش افزایش معنی‌دارتری را نشان داده است (P < ۰/۰۱). بین سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.



نمودار ۱: مقایسه سرعت شنا بین گروه‌های کنترل، شاهد، EB3R، EB3R+D5F، EB3R+D10F



نمودار ۲: مقایسه زمان سپری شده برای یافتن سکو بین گروه‌های کنترل، شاهد، EB3R، EB3R+D5F، EB3R+D10F

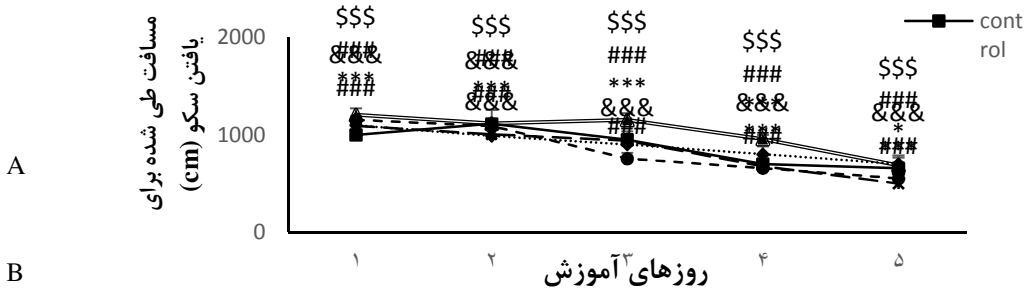
نمودار ۱و۲ : مقایسه‌میانگین سرعت شنای حیوانات و زمان سپری شده برای یافتن سکو طی روزهای آموزش بین گروه‌های آزمایشی.گروه‌ها: Control: کنترل، Saline: شاهد، EB3R: اتیدیوم بروماید، EB3R+D5F: اتیدیوم بروماید + عصاره فرولا اسزوویتسیانا با دوز ۵g/ratμ، EB3R+D10F: اتیدیوم بروماید + عصاره فرولا اسزوویتسیانا با دوز ۱۰g/ratμ. نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد میانگین بیان شده است. علامت $ بیانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های Control و Saline با EB3R است. علامت # بیانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های EB3R با EB3R+D5F است. علامت * بیانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های EB3R با EB3R+D10F است و علامت & بیانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های EB3R+D5F با EB3R+D10F است. یک علامت (P <۰/۰۵)، دوعلامت (P <۰/۰۱)، سه علامت (P < ۰/۰۰۱) (در هر گروه۷ = n).

نتایج به‌دست آمده از بررسی آماری نشان داد که شاخصه مسافت طی شده برای رسیدن به سکوی پنهان نیز در طی روزهای آموزش در تمامی گروه‌های آزمایشی کاهش یافته است (P <۰/۰۱). با این حال، در روزهای چهارم و پنجم، گروه‌های کنترل (۸۹۹/۸۱±۳۵/۶۵) و شاهد (۸۸۵/۹۴±۲۹/۵۶) نسبت به گروه EB3R (۱۰۲۲/۴۴±۵۳/۲۹) مسافت کمتری برای رسیدن به سکوی پنهان طی نمودند (P <۰/۰۰۱). هم‌چنین گروه‌های EB3R+D5F (۸۴۲/۰۳±۳۸/۰۵) و EB3R+D10F

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-24]
[DOI: 10.18502/ssu.v26i11.554]

(۸۳۸/۳۹±۲۴/۱۶) درمقایسه با گروه EB3R به صورت معنی‌داری مسافت کمتری برای یافتن سکو طی کردند (P <۰/۰۰۱)(نمودار۲-B). بررسی آماری شاخصه مدت زمان سپری شده برای یافتن سکوی پنهان نشان داد که همانند مسافت طی شده برای یافتن سکو، مدت زمان سپری شده نیز در روزهای چهارم و پنجم، گروه‌های کنترل (۳۸/۳۳±۰/۵۱) و شاهد (۳۶/۲۶±۰/۶۵) نسبت به گروه EB3R (۴۱/۳±۳/۲۹) مدت زمان کمتری را برای رسیدن به سکوی پنهان طی نمودند (P<۰/۰۰۱). هم‌چنین گروه‌های EB3R+D5F (۳۵/۸۷±۲/۶۴) و EB3R+D10F (۳۴/۸۷±۱/۲۴) در مقایسه با گروه EB3R به صورت معنی‌داری در مدت زمان کمتری به سکو رسیدند (P<۰/۰۰۱)(نمودار۲-A). علاوه بر این، هر دو شاخصه از یک الگوی وابسته به دوز پیروی کرده‌اند و حیوانات گروه EB3R+D5F در مقایسه با گروه EB3R+D10F زمان و مسافت کمتری را برای یافتن سکوی پنهان سپری نموده‌اند (P <۰/۰۱) (نمودار۲).

این یافته‌ها نشان می‌دهند که اختلال عملکرد حافظه و یادگیری فضایی که با ریزتزریق سم اتیدیوم بروماید ایجاد شده است، توسط تیمار با عصاره فرولا اسزوویتسیانا و به صورت وابسته به دوز بهبود یافته است.



نمودار۳: مقایسه میانگین مسافت طی شده برای رسیدن به سکو بین گروه‌های کنترل، شاهد، EB3R، EB3R+D5F، EB3R+D10

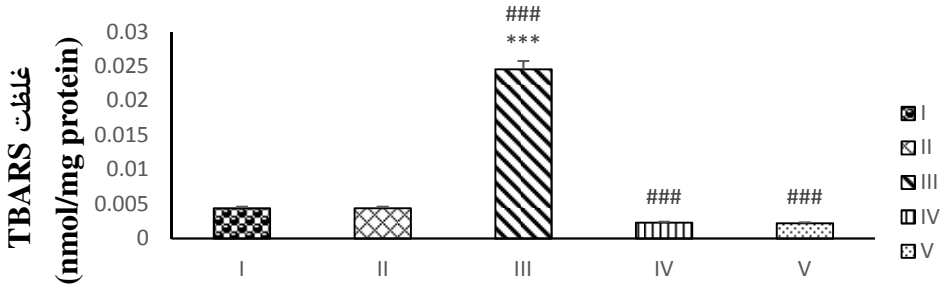
نمودار۳ : مقایسه میانگین مسافت طی شده برای رسیدن به سکو طی روزهای آموزش بین گروه‌های آزمایشی.گروه‌ها: Control: کنترل، Saline: شاهد، EB3R: اتیدیوم بروماید، EB3R+D5F: اتیدیوم بروماید + عصاره فرولا اسزوویتسیانا با دوز ۵g/ratμ، EB3R+D10F: اتیدیوم بروماید + عصاره فرولا اسزوویتسیانا با دوز ۱۰g/ratμ. نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد میانگین بیان شده است. علامت $ بیانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های Control و Saline با EB3R است. علامت # بیانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های EB3R با EB3R+D5F است. علامت * بیانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های EB3R با EB3R+D10F است و علامت & بیانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های EB3R+D5F با EB3R+D10F است. یک علامت (P <۰/۰۵)، دوعلامت (P < ۰/۰۱)، سه علامت (P ۰/۰۰۱) (در هر گروه۷ = n).

نتایج سنجش پروکسیداسیون لیپیدی

القای دمیلیناسیون تجربی توسط سم اتیدیوم بروماید یکی از شاخصه‌های مهم استرس اکسیداتیو (پارامتر محصولات پروکسیداسیون لیپیدی) را تحت تأثیر قرار داد. با توجه به آنالیز داده‌های پروکسیداسیون لیپیدی، مقادیرTBARS در گروه III (۳/۸±۰/۵۱) در مقایسه با گروه‌های I (۰/۶۸±۰/۱۳) و II (۰/۶۸±۰/۱۳) افزایش معنی‌داری را نشان داد (P <۰/۰۰۱). تیمار گروه‌های IV (۰/۳۵±۰/۰۳) و V (۰/۳۴±۰/۰۳) میزان محصولات پروکسیداسیون لیپیدی را به طور معنی‌داری به میزان طبیعی آن‌ها نزدیک کرد (P <۰/۰۰۱). پارامتر TBARS بین دو گروه V و IV تفاوت معنی‌داری را طی آنالیز آماری نشان نداد. هم‌چنین آزمون آماری نشان داد که در مقادیر محصولات پروکسیداسیون لیپیدی، بین گروه‌های I و II با گروه‌های IV و V تفاوت معنی‌داری وجود ندارد (نمودار ۳). این

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-24]
[DOI: 10.18502/ssu.v26i11.554]

نتایج بیان می‌کنند که ریزتزریق عصاره فرولا اسزوویتسیانا به مدت سه روز، آسیب اکسیداتیو القاء شده توسط سم اتیدیوم بروماید را بهبود بخشیده و پارامتر بیوشیمیایی TBARS را به طور معنی‌داری به مقادیر طبیعی آن نزدیک کرد.



نمودار۴- نتایج سنجش میزان TBARS برای ارزیابی میزان پروکسیداسیون لیپیدی بین گروه‌های کنترل، شاهد، EB3R+D5F،EB3R ، EB3R+D10

نمودار۴- نتایج سنجش میزان TBARS برای ارزیابی میزان پروکسیداسیون لیپیدی. گروه‌ها: I کنترل، II: شاهد، III: اتیدیوم بروماید، IV: اتیدیوم بروماید + عصاره فرولا اسزوویتسیانا با دوز ۵g/ratμ، V: اتیدیوم بروماید + عصاره فرولا اسزوویتسیانا با دوز ۱۰g/ratμ. نتایج به صورت میانگین ± خطای استاندارد میانگین بیان شده است. علامت * بیانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های I و II با III است. علامت # بیانگر اختلاف معنی‌دار بین گروه‌هایIV و V می‌باشد ($P < ۰/۰۰۱$) (در هر گروه، $n = ۷$).

بحث

نتایج این تحقیق نشان داد که تزریق موضعی سم اتیدیوم بروماید به تشکیلات هیپوکامپی (CA_1)، باعث تخریب روند یادگیری، حافظه فضایی و القای استرس اکسیداتیو در مقایسه با گروه‌های کنترل شاهد می‌شود. هم‌چنین ریزتزریق عصاره فرولا اسزوویتسیانا به صورت کوتاه مدت، اختلالات یادگیری و حافظه و نیز افزایش بار اکسیداتیو ناشی از تزریق موضعی EB را بهبود می‌بخشد. نتایج مطالعه حاضر مبنی بر اختلال حافظه فضایی در مدل‌های تجربی MS، با نتایج به‌دست آمده از مطالعات انجام گرفته توسط Kim و همکاران (۷)، Ziehn و همکاران (۵) و Nizri و همکاران (۲۵) هم‌راستاست. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تزریق موضعی EB به داخل تشکیلات هیپوکامپی (CA_1) منجر به افزایش معنی‌دار محصولات پروکسیداسیون لیپیدی در مدل‌های تجربی MS می‌گردد. مطالعات دیگر نشان داده‌اند، تزریق مستقیم EB سبب القای استرس اکسیداتیو و افزایش میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) که شاخص پروکسیداسیون لیپیدی است، می‌گردد؛ این افزایش نشان‌دهنده افزایش تولید رادیکال‌های آزاد در CNS است که با نتایج مطالعه ما موافق هستند (۹،۲۶،۲۷). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ریز تزریق عصاره فرولا اسزوویتسیانا اختلالات به وجود آمده در عملکرد یادگیری و حافظه فضایی را به صورت وابسته به دوز بهبود می‌بخشد. عصاره فرولا اسزوویتسیانا با دوز ۱۰g/ratμ مدت زمان سپری شده و مسافت طی شده برای رسیدن به سکوی پنهان را به طور معنی‌داری‌کاهش داد. هم‌چنین میانگین سرعت شنا در طی روزهای آموزش بین گروه‌های آزمایشی به صورت معنی‌داری کاهش یافت، اما این کاهش در سرعت نسبت به مدت زمان سپری شده و مسافت طی شده، کمتر مشاهده شد. عصاره فرولا اسزوویتسیانا حاوی موادی آنتی‌اکسیدانی نظیر اوراپتن و آمبلی‌پرنین می‌باشد که این مواد به عنوان گیرنده رادیکال‌های آزاد، به ویژه آنیون‌های سوپر اکساید، عمل می‌کنند و سلول‌ها را از استرس‌اکسیداتیو حفاظت می‌کنند (۲۰، ۱۵). گیاه فرولا اسزوویتسیانا برای اولین بار است که بر روی CNS مورد مطالعه

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-24]
[DOI: 10.18502/ssu.v26i11.554]

قرار می‌گیرد اما با توجه به مطالعاتی که روی دیگر سیستم‌ها و بافت‌ها صورت گرفته و خواصی که از آن گزارش شده ازجمله آنتی‌اکسیدانی، ضد التهاب، ضدسرطان، آنتی‌بیوتیک (۱۶، ۱۵، ۱۴، ۱۳) و هم‌چنین با توجه به مطالعاتی که در مورد مواد آنتی‌اکسیدانی و استرس اکسیداتیو صورت گرفته؛ این گیاه می‌تواند به عنوان یک گیرنده رادیکال‌های آزاد عمل کرده و استرس اکسیداتیو را که عامل انواعی از اختلالات تحلیل برنده CNS است، کاهش دهد (۲۸،۲۹).

قسمت دیگری از نتایج تحقیق حاضر نشان داد که عصاره فرولا اسزوویتسیانا بیومارکر پروکسیداسیون لیپیدی در هیپوکامپ مدل‌های تجربی MS را به طور معنی‌داری تعدیل می‌کند. این یافته با بررسی دیگری که در آن سایر گیاهانی که خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند و باعث کاهش سطح محصولات پروکسیداسیون لیپیدی شدند، هم‌سو می‌باشد (۲۷). هم‌چنین در مطالعات دیگری که ارتباط بین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و پارامترهای استرس‌اکسیداتیو در مدل‌های تجربی MS صورت گرفته کاهش محصولات پروکسیداسیون لیپیدی مشاهده شده که با نتایج حاصل از این مطالعه هم‌سو می‌باشد (۲۲،۲۷). به طور خلاصه می‌توان عنوان کرد که ریزتزریق کوتاه مدت عصاره الکلی فرولا اسزوویتسیانا می‌تواند به صورت وابسته به دوز، نقایص شناختی القاء شده توسط سم اتیدیوم بروماید در هیپوکامپ مدل‌های تجربی MS را بهبود بخشد. هم‌چنین یافته‌های مطالعه حاضر پیشنهاد می‌کنند که عصاره فرولا اسزوویتسیانا به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی استرس اکسیداتیو در نورون‌ها را مهار می‌کند و می‌تواند در درمان اختلالات تحلیل برنده‌مغزی نظیر MS مفید باشد. شایان ذکر است که مطالعه حاضر هیچ ادعایی مبنی بر بهبود روند رمیلیناسیون توسط عصاره فرولا اسزوویتسیانا ندارد. با این حال لزوم تحقیقات بیشتر در این زمینه پیشنهاد می‌شود. مطالعات موردی و اطلاعات کافی مربوط به گیاه فرولا اسزوویتسیانا در دسترس نبوده و هم‌چنین در طول مطالعه، موانعی از جمله کمبود امکانات آزمایشگاهی و پرهزینه بودن تهیه لوازم مورد نیاز تحقیق، در کاهش سرعت پیشرفت آزمایشات تأثیر بسزایی داشته است.

نتیجه گیری

بر اساس نتایج مقاله حاضر، ریزتزریق مستقیم سم EB سبب کاهش معنی‌دار عملکرد حافظه فضایی و افزایش بار اکسیداتیو در رت‌های نر بالغ به عنوان مدل‌های تجربی MS نسبت به گروه کنترل و شاهد گردید. از طرف دیگر ریزتزریق عصاره فرولا اسزوویتسیانا به صورت کوتاه مدت، اختلالات یادگیری و حافظه و نیز افزایش بار اکسیداتیو ناشی از تزریق موضعی EB را بهبود بخشید. همچنین ریز تزریق عصاره فرولا اسزوویتسیانا اختلالات به وجود آمده در عملکرد یادگیری و حافظه فضایی را به صورت وابسته به دوز بهبود بخشید.

سپاسگزاری

مقاله حاضر مستخرج از پایان نامه کارشناسی ارشد بوده و بدین وسیله از معاونت پژوهشی محترم دانشگاه تبریز در تأمین اعتبار لازم قدردانی می‌گردد.

تعارض در منافع: وجود ندارد.

References:

1-Bradley WG, Daroff RB, Marsden CD, Fenichel GM. ***Neurology in Clinical Practice. 4th ed. Philadelphia***. Butterworth-Heinemann 2004; 1637-59.

2-Zhang H, Jarjour AA, Boyd A, Williams A. ***Central nervous system remyelination in culture-A tool for multiple sclerosis research.*** Exp Neurol 2011; 230:138-48.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-24]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i11.554]

*3-*Peyser JM, Rao SM, LaRocca NG, Kaplan E. ***Guidelines for neuropsychological research in multiple sclerosis***. Arch Neurol 1990; 47: 94-7.

*4-*Benedict RH, Fischer JS, Archibald CJ, Arnett PA, Beatty WW, Bobholz J, et al. ***Minimal neuropsychological assessment of MS patients a consensus approach.*** Clin Neuropsychol 2002; 16(3): 381-97.

*5-*Ziehn MO, Avedisian AA, Tiwari-Woodruff S, Voskuhl RR. ***Hippocampal CA1 atrophy and synaptic loss during experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE***. Lab Invest 2010; 90(5): 774-86.

*6-*Gilgun-Sherki Y, Melamed E, Offen D. ***The role of oxidative stress in the pathogenesis of multiple sclerosis: the need for effective antioxidant therapy***. J Neurol 2004; 251: 261-8.

*7-*Kim D, Hao J, Liu R, Turner G, Shi FD, Rho JM. ***Inflammation-Mediated Memory Dysfunction and Effects of a Ketogenic Diet in a Murine Model of Multiple Sclerosis***. PLoS One 2012; 7(5): 354-76.

*8-*Ghadrdoost B, Vafaei AA, Rashidy-Pour A, Hajisoltani R, Bandegi AR, Motamedi F, et al. ***Protective effects of saffron extract and its active constituent crocin against oxidative stress and spatial learning and memory deficits induced by chronic stress in rats***. Eur J Pharmacol 2011; 677(1-3): 222-9.

*9-*Mazzanti CM, Spanevello R, Ahmed M, et al. ***Pre-treatment with ebselen and vitamin E modulate acetylcholinesterase activity: interaction with demyelinating agents.*** Int J Dev Neurosci 2009; 27: 73-80.

10- Abdel-Salam OME, Khadrawy YA, Mohammed NA, Youness ER. ***The effect of gabapentin on oxidative stress in a model of toxic demyelination in rat brain***. J Basic Clin Physiol Pharmacol 2012; 23(2): 61-8.

11- Goudarzvand M, Javan M, Mirnajafi-Zadeh J, Mozafari S, Tiraihi T. ***Vitamins E and D3 attenuate demyelination and potentiate remyelination processes of hippocampal formation of rats following local injection of ethidium bromide.*** Cell Mol Neurobiol 2010; 30(2): 289-99.

12- Mazzanti CM, Spanevello R, Ahmed M, Schmatz R, Mazzanti A, Salbego F, et al. ***Cyclosporine A inhibits acetylcholinesterase activity in rats experimentally demyelinated with ethidium bromide***. Int J Dev Neurosci 2007; 25(4): 259-64.

13- Soltanzad F, Samadishams S, Barar J, Nazemyieh H, Omidi Y. ***Evaluation of cytotoxicity and anticancer effect of Ferula szowitsiana methanolic extract on lung cancer A549 cell-lines***. Res Pharm Sci 2012; 7.

14- Soltani F, Mosaffa F, Iranshahi M, Karimi G, Malekaneh M, Haghighi F, et al. ***Auraptene from Ferula szowitsiana protects human peripheral lymphocytes against oxidative stress***. Phytother Res 2010; 24: 85-9.

15- Kohno S, Murata T, Sugiura A, et al. ***Methyl galbanate, a novel inhibitor of nitric oxide production in mouse macrophage RAW264.7C***. J Nat Med 2011; 65: 353-9.

16- Ozek G, Ozek T, Iscan G, Baser KHC, Duran A, Hanzaoglu E. ***Composition and antimicrobial***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-24]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i11.554]

activity of the oils of Ferula szowitsiana DC from Turkey. J Essent Oil 2008; 20: 186-90.

17- Bazzaz BSF, Du AR, Iranshahi M, Naderinasab M, Karamodin MK. ***Evaluating the potentialing effect of galbanic acid from Ferula szowitsiana on three common antibiotics against resistant hospital of Staphylococcus aureus***. I J pharm 2009; 8(3): 217-21.

18- Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. ***Cancer statistics.*** CH Cancer J Clin 1999; 49: 8-31.

19- Mousavi SH, Tavakkol-Afshari J, Brook A, Jafari- Anarkooli I***. Role of caspases and Bax protein in saffron-induced apoptosis in MCF-7 cells***. Food Chem Toxicol 2009; 47(8):1909-13. [Persian]

20- DiCarlo G, Wilcock D, Henderson D, Gordon M, Morgan D. ***Intrahippocampal LPS injections reduce Aβ load in APP+ PS1 transgenic mice.*** Neurobiol Aging 2001; 22(6): 1007-12.

21- Shati A, Elsaid F, Hafez E. ***Biochemical and molecular aspects of aluminium chloride-induced neurotoxicity in mice and the protective role of Crocus sativus L.extraction and honey syrup.*** Neuroscience 2011; 175: 66-74.

22- Hooshmandi Z, Rohani AH, Eidi A, Fatahi Z, Golmanesh L, Sahraei H. ***Reduction of metabolic and behavioral signs of acute stress in male Wistar rats by saffron water extract and its constituent safranal.*** Pharm Biol 2011; 49(9): 947-54.

23- Giralt A, Saavedra A, Carretón O, Xifró X, Alberch J, Pérez-Navarro E. ***Increased PKA signaling disrupts recognition memory and spatial memory: role in Huntington's disease***. Hum Mol Gen 2011; 20(21): 4232-47.

24- Li Z, Wu CF, Pei G, Xu NJ. ***Reversal of morphine-induced memory impairment in mice by withdrawal in morris water maze: possible involvement of cholinergic system***. Pharmacol Biochem Behave 2001; 68(3): 507-13.

25- Nizri E, Irony-Tur-Sinai M, Faranesh N, Lavon I, Lavi E, Weinstock M, Brenner T. ***Suppression of neuroinflammation and immunomodulation by the acetylcholinesterase inhibitor rivastigmine.*** J Neuroimmunol 2008; 203(1): 12-22.

26- Abdel-Salam OME, Khadrawy YA, Salem NA, Sleem AA. ***Oxidative stress in a model of toxic demyelination in rat brain, the effect of piracetam and vinpocetine***. Neurochem Res 2011; 36(6): 1062-72.

27- Spanevello R, Mazzanti CM, Schmatz R, et al. ***Effect of vitamin E on ectonucleotidaseactivities in synaptosomes and platelets and parameters of oxidative stress in rats experimentally demyelinated***. Brain Res Bull 2009; 80(1-2): 45-51.

28- Abe K, Saito H***. Effects of saffron extract and its constituent crocin on learning behaviour and long-term potentiation***. Phytother Res 2000; 14(3): 149-52.

29- Ghaffary sh, Hatami Nemati H, Dehghan Gh. ***Protective effects of Short-term Administration of Saffron Extraction on Improvement of Cognitive Deficits and Decrement of Lipid Peroxidation Induced by Ethidium Bromide in Experimental Models of MS***. Physiol Pharmacol 2013; 17(3): 315-27. [Persian].

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-24]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i11.554]

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol 26| NO 11 | Feb 2019

Received: 25 Oct 2017
Accepted: 30 Dec 2017

The effect of ethanolic extract of Ferula szowitsiana on cognitive deficits and lipid peroxidation induced by ethidium bromide in experimental model of MS

Somayeh Abdi[1], Homeira Hatami Nemati[*2], Roghayeh Khakpay[3], Gholamreza Dehghan[4]

Original Article

Introduction: The aim of this study was to investigate the effect of short-term microinjection of Ferula szowitsiana extract on the process of spatial memory and lipid peroxidation in the hippocampus in an experimental model of Multiple Sclerosis (MS).

Methods: In this experimental study, 35 male Wistar rats were randomly divided into five groups. Each group has 7 rats. These groups were included control, sham, model of MS and MS groups with plant extract treatments. In the experimental model of MS groups, induction of MS was carried out by single injection of ethidium bromide (EB) into the hippocampus. One week after MS induction by EB (0.01 %), the MS groups were treated by Ferula szowitsiana extract (5 and 10 µg/rat) for 3 consecutive days. Finally following the treatment period, for measuring spatial memory, Morris Water Maze test was carried out and the hippocampus of both sides were dissected and used for measurement of Malondialdehyde (MDA).

Results: The results showed that in the experimental model of MS group travelled distance (1022.44±53.29) and escape latency (41.30±3.29) increased compared to travelled distance (885.94±29.56) and escape latency (36.26±0.65) in the control group ($p<0.001$). Short-term treatment by Ferula szowitsiana extract in this models decreased the travelled distance (838.39±24.16) and escape latency (39.87±1.24) ($P<0.001$). MDA increased in the experimental model of MS group (3.8±0.51) compared to the control group (0.68±0.13) ($p<0.001$) and in the Ferula treated group (0.34±0.04) decreased compared to the MS animals ($P<0.001$).

Conclusion: Treatment with Ferula szowitsiana extract is able to prevent memory and learning reduction, through inhibition of lipid peroxidation in an experimental model of MS.

Keywords: Hippocampus, Multiple sclerosis, Malondialdehyde, Ferula szowitsiana, Spatial memory, rat.

Citation: Abdi S, Hatami Nemati H, Khakpay R, Dehghan Gh**.The effect of ethanolic extract of Ferula szowitsiana on cognitive deficits and lipid peroxidation induced by ethidium bromide in experimental model of MS.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2019; 26(11): 1008-18

[1]Department of Animal Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
[2]Department of Animal Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
[3]Department of Animal Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
[4]Department of Animal Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
***Corresponding author: Tel:** 09144002603, **email:** h.hatami@tabrizu.ac.ir

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-11-24]

[DOI: 10.18502/ssu.v26i11.554]