

بررسی اثر عصاره هیدروالکلی گیاه برازمبل *Perovskia abrotanoides* بر دانسیته نورونی موش‌های صحرائی تحت استرس مزمن بی‌حرکتی

مریم طهرانی‌پور^۱، راحله پاک‌جامه*^۲، سعیده طفربالانژاد^۳

مقاله پژوهشی

مقدمه: تعداد نورون‌های مناطق هیپوکامپ می‌تواند تاثیر مستقیمی بر عملکرد آن داشته باشد. گیاه برازمبل از تیره نعنایان دارای خواص آنتی‌اکسیدانی شاید است. هدف بررسی اثرات استرس و عصاره برازمبل بر دانسیته نورونی CA1, CA2 در موش صحرائی نر بود. **روش بررسی:** در این مطالعه تجربی موش‌های صحرائی نژاد ویستار به ۵ گروه ۶ تایی شامل کنترل، کنترل منفی تحت استرس، تجربی (شامل: استرس و دریافت کننده عصاره برازمبل با دوزهای ۵۰ mL، ۷۵ mL و ۱۰۰ mL) تقسیم شدند. گروه استرس مدت ۲۱ روز داخل محدود کننده رت مدت ۲ ساعت قرار گرفتند. گروه‌های دریافت کننده عصاره نیز به مدت ۲۱ روز، به روش گاواژ عصاره را دریافت داخل محدود کننده قرار گرفتند. پس از خارج کردن مغز با عمل پرفیوژن، هیپوکامپ برش‌گیری و رنگ‌آمیزی شد، دانسیته نورونی به روش دایسکتور و متداستریولوژی محاسبه شد. نتایج توسط نرم‌افزار Minitab 16 با آزمون آماری t-test و ANOVA در سطح معناداری ($P < 0/05$) تحلیل شدند.

یافته‌ها: آنالیز آماری داده‌ها نشان می‌دهد که میانگین دانسیته نورونی در گروه استرس نسبت به کنترل در CA1 و CA2 کاهش معناداری را نشان می‌دهد ($p < 0/01$). میانگین دانسیته نورونی ناحیه CA1 بین گروه استرس (29 ± 3) و تیمار هیدروالکلی دوز ۵۰ mg/kg (25 ± 3) افزایش معناداری را نشان می‌دهد. هم‌چنین میانگین دانسیته نورونی در گروه استرس با عصاره دوز ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم برابر (27 ± 3) و در گروه تیمار با عصاره هیدروالکلی دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم برابر (21 ± 3) و تیمار با عصاره هیدروالکلی دوز ۵۰ mg/kg (28 ± 3) افزایش معناداری را نشان می‌دهد ($p < 0/01$). هم‌چنین میانگین دانسیته نورونی در گروه استرس با عصاره دوز ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم برابر (27 ± 3) و در گروه تیمار با عصاره هیدروالکلی دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (22 ± 3) می‌باشد که در مقایسه با گروه استرس افزایش معناداری را نشان می‌دهد ($p < 0/01$). **نتیجه‌گیری:** نتایج پژوهش نشان می‌دهند احتمالاً عصاره هیدروالکلی برازمبل به دلیل داشتن مواد پلی‌فنلی مانند فلاونوئیدها باعث افزایش دانسیته نورونی هیپوکامپ مغز می‌شود که به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا و... می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: عصاره هیدروالکلی، دانسیته نورونی، گیاه برازمبل، هیپوکامپ

ارجاع: طهرانی‌پور مریم، پاک‌جامه راحله، طفربالانژاد سعیده. بررسی اثر عصاره هیدروالکلی گیاه برازمبل *Perovskia abrotanoides* بر دانسیته نورونی موش‌های صحرائی تحت استرس مزمن بی‌حرکتی. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۳۹۸؛ ۲۸ (۶): ۹۳-۲۷۸۱.

۱- دانشیار، دکترای تخصصی فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران.

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران.

۳- استادیار، دکترای تخصصی تکوین جانوری، گروه زیست‌شناسی، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران.

* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۹۱۵۱۵۳۲۶۶۰، پست الکترونیکی: afsaneh.pak94@gmail.com، صندوق پستی: ۵۱۲۱۲۲۵۲-۰۲۱

مقدمه

استرس از جمله اختلالات روحی روانی است که به دلیل شیوع و گسترش آن در اشکال مختلف میان همه سنین با عنوان بیماری قرن شناخته شده است. محققان معتقدند که استرس‌های مختلف مانند خستگی، سرما، عفونت، مسمومیت، استرس‌های روانی و تروما می‌تواند مشکلات مشابهی در انسان القا نمایند (۱). هیپوکامپ دارای ارتباطات متعددی با قسمت‌های زیادی از قشر مخ، دستگاه لیمبیک یعنی آمیگدال هیپوتالاموس سیتوم واجسام پستانی می‌باشد (۲،۳). روند به‌رمز در آوردن حافظه با بهره‌وری از هیپوکامپ و ارتباطاتش صورت می‌گیرد (۴). مدت‌ها تصور می‌شد که پس از یک دوره کوتاه در اطفال مغز انسان توانایی تقسیم سلولی را از دست داده و دیگر نمی‌تواند سلول‌های عصبی جدید بسازد اما اکنون می‌دانیم که هیپوکامپ خلاف این قاعده عمل می‌کند و نورون‌های این ناحیه پیوسته در حال مرگ و زایش هستند (۵). اگر چه نورون‌ها عموماً پس از تولد فاقد قدرت تکثیر می‌باشند اما می‌توانند در مقابل درجات معینی از ضایعات مقاومت کرده و بهبود یابند که به این فرایند دژنراسیون می‌گویند (۶). سال‌ها عصب‌شناسان در جستجوی پاسخ این سوال بودند که چرا استرس برای فعالیت‌های مغزی اینقدر مضر هست و اکنون به‌نظر می‌رسد که جوابشان باید در همین ناحیه هیپوکامپ نهفته باشد. استرس مزمن با واسط مولکولی به نام اینترلوکین ۱ بتا که در شرایط التهاب و استرس ترشح می‌شود باعث مرگ نورون‌ها و پیشگیری از نوروزن در هیپوکامپ شده و به این ترتیب توانایی ما برای ایجاد تغییرات و همچنین داشتن خلاقیت برای پیدا کردن روش‌هایی برای کاهش استرس را از بین می‌برد. به‌نظر می‌رسد چروکیده شدن هیپوکامپ یکی از مهمترین وقایعی است که با کاهش قوای ذهنی به‌دنبال افزایش سن و بیماری آلزایمر مربوط باشد و به‌همین دلیل فعالیت‌های مستمر فکری با تحریک زایش سلولی در هیپوکامپ می‌تواند مانع این فعالیت شود (۷). کاهش حجم هیپوکامپ اختلالاتی را در حافظه و یادگیری ایجاد می‌نماید (۸). مغز توانایی تغییر ارتباطات نورونی جهت سازگاری بهتر با موقعیت‌های جدید را

دارد مغز انسان به‌صورت پیوسته سلول‌های عصبی جدید نیز تولید می‌کند که این فرایند تحت عنوان عصب‌زایی شناخته شده است یکی از مناطق فعال عصب‌زایی در مغز هیپوکامپ است که این بخش در یادگیری و حافظه به‌میزان زیادی دخالت دارد (۹). در موجودات مختلف، بی‌حرکتی در دو شکل حاد و مزمن به‌عنوان استرس تلقی می‌گردد که می‌تواند اثرات گوناگونی بر فیزیولوژی جانوران در حوزه‌های رشد و نمو و حوزه عملکرد فیزیولوژیک هیپوتالاموس، هیپوفیز، آدرنال و غده تیروئید داشته باشد (۱۰). استرس منجر به افزایش رهاسازی کاتکول‌آمین‌ها و گلوکوکورتیکوئیدها توسط فعالیت اعصاب سمپاتیک غده آدرنال و محور هیپوتالاموس هیپوفیز آدرنال (۱۰،۸) و همچنین آزادسازی آمینواسیدهای تحریکی در مغز می‌شود (۸). از طرف دیگر سالیان دراز است که مردم بومی به طرق مختلف در طب سنتی از فرآورده‌های گیاه برازمبل در پیشگیری و درمان بیماری‌های شایع خود استفاده می‌برند. جنس *Perorskia L* متعلق به تیره نعنایان دارای ۳ گونه است و *Perorskiaabrotanoides* با نام فارسی برازمبل (نام محلی گل کبود در خراسان)، گیاهی پایا، درختچه‌ای با گل‌های آبی مایل به بنفش به‌عنوان گیاه دارویی معطر است. گیاهی نیمه خشک، بدون کرک، پوشیده از غده‌های ترش‌چی متعدد، برگ‌های ناحیه گل‌آذین به طول ۳ تا ۸ میلی‌متر، گل‌ها متعدد، گل‌آذین خوشه‌ای مرکب، مجموعه گل‌ها دارای ۲ تا ۴ گل، کاسه گل به‌طول ۴ تا ۵ میلی‌متر، لوله‌های استکانی بنفش رنگ در قسمت قاعده پوشیده از کرک‌های سفید و بنفش رنگ بلند و متراکم و همراه غده‌های ترش‌چی گل‌ها بنفش یا گاهی قرمز رنگ (۱۱). تحقیقات نشان داد اسانس برازمبل دارای اثر ضد پاتوژن علیه برخی از آفات انباری هستند و منوترینوئیدها از مهم‌ترین ترکیبات شیمیایی اسانس بوده که می‌توان خاصیت حشره‌کشی به آن نسبت داد (۱۲). خاصیت دفع کرم و انگل این گیاه به‌دلیل وجود ماده مؤثره وربن و ترپینولن *Terpinolene* می‌باشد، وجود ماده مؤثره *myrcene* به گیاه خاصیت ضد عفونی‌کنندگی، خنک‌کننده، ضد سرطان، ضد باکتریال، مسکن قوی و آنتی‌اکسیدان می‌دهد. ماده *p-cymene*

ارگان‌های هدف محیطی آزاد شده و از طریق انتقال اکسونی روبه جلو منتقل می‌شوند (۱۴). آکسون‌ها این توانایی را دارند که به سرعت جهت خود را در پاسخ به غلظت فاکتورهای رشد عصب تغییر دهند. انواع زیادی از مولکول‌های اتصال‌دهنده سلول به سلول و سلول به سلول به ماتریکس خارجی از جمله ایمونوگلوبولین، اینتگرین و کاده‌رین در طی ترمیم و تکامل اعصاب نقش دارند (۱۵). ابراهیمی فخر در سال ۱۳۹۳ عنوان کرد که خواص دارویی متعددی از جمله فعالیت ضد لیشمانیوز، ضد پلاسمودیسم، ضد درد، ضد التهاب، ضد باکتریایی و سمیت سلولی برای گیاه برازمبل وجود دارد (۱۶). ابریشم چی ثابت کرد که عصاره فنلی برگ برازمبل توانایی زیادی در حفاظت از سلول‌ها در برابر تنش اکسیداتیو دارد (۱۷).

Vokov و همکاران از ترکیبات ترپنی و فنلی عصاره اتانولی سرشاخه‌های گلدار برازمبل در شرایط *in vitro* دارای اثر بسیار خوب ضد پاتوژنی علیه ۱۳ پاتوژن گزارش کرد (۱۸). از ترکیبات فلاونوئیدی و فنلی موجود در سرشاخه‌های گلدار به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های قوی و ضد التهاب به همراه فلفل، زنجبیل و زردچوبه در درمان آرتروز، رماتیسم و اثر ضد دردی و ضد التهابی آن بر سیستم عصبی را مشابه اثر دیکلوفناک نام برد (۱۹). از ترپینن-۴-ال موجود در عصاره سرشاخه‌های هوایی گیاه برازمبل یک مسکن قوی، ضد التهاب، شل‌کننده عضلات و ضد درد نام برد (۲۰، ۲۱). در بررسی فتوشیمیایی انجام شده بر روی ریشه این گیاه مشخص شد که ریشه حاوی ترکیبات دی‌ترین کینونی موسوم به تانشینون‌ها Tanshinone است (۲۲). تانشینون 2A با فعال کردن کانال‌های پتاسیمی، فرکانس ضربان قلب را تنظیم می‌کند. از دیگر ویژگی‌هایی که به ترکیبات تانشینونی نسبت داده شده است، می‌توان به اثرات تنظیم تولید سیتوکین‌ها و افزایش یادگیری و حافظه اشاره کرد (۲۲). از آنجا که استرس یکی از ویژگی‌های نامطلوب جوامع کنونی بوده و با توجه به گسترش استفاده از گیاهان دارویی و همچنین محدودیت مطالعات صورت گرفته در زمینه تاثیر استرس بی‌حرکتی و نیز عصاره گیاه برازمبل بردانسیته نورونی هیپوکامپ، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات استرس

نیز به گیاه خاصیت ضد باکتری، ضد ویروس مسکن و درمان دردهای روماتیسمی می‌دهد. خاصیت ضد اکسیداسیون، ضدتوموری، ضدباکتری، محرک و صفرا به دلیل وجود ماده مؤثره گاما-terpinene می‌باشد (۱۳). اسماعیلی و همکاران در سال ۲۰۰۸ گزارش کردند عصاره سرشاخه گلدار برازمبل به علت وجود ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و آنتوسیانینی دارای خاصیت ضدانگلی، آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی می‌باشد (۱۴). نتایج حاصل از بررسی مهم‌ترین مواد ثانوی عصاره گیاه نشان داد که میزان ترکیبات فلاونوئیدی فنلی و آنتوسیانینی در اندام‌ها و رویشگاه‌های مختلف متفاوت بوده است. هم‌چنین میزان مقادیر این ترکیبات گیاه در سرشاخه‌های گلدار گیاه افزوده شده است. یکی از اهداف اصلی محققان کشف داروهای است برای تحریک مناطقی از مغز که به وسیله جایگزینی، سلول‌ها ترمیم خودبه‌خودی را انجام می‌دهند. تعدادی از مطالعات در این زمینه نشان دادند که آکسون‌های مغز توانایی رشد مجدد را بعد از درجاتی از صدمات دارند. برای این که سلول‌های جدید مغزی توسعه پیدا کنند سلول‌های بنیادی عصبی چند ظرفیتی در مغز تقسیم شده و به نورون‌ها و سلول‌های گلیال جدید تبدیل می‌شوند. برای بالغ شدن این سلول‌ها از سلول‌های چند ظرفیتی جدا می‌شوند و این نورون‌ها با نورون‌های فعال ارتباط برقرار می‌کنند و بیش از یک ماه طول می‌کشد تا نورون‌های جدید قادر به ارسال و دریافت پیام‌های جدید شوند، که این نشان می‌دهد نورون‌ها یک فرایند کاملاً کنترل شده است. نورون‌ها توسط فاکتورهای رشد کنترل می‌شود که این فاکتورها می‌توانند تکامل سلول‌های جدید را رهبری کنند. فاکتورهای رشد دیگری از جمله فاکتور نوروتروفیک نیز سلول را زنده نگه می‌دارند. فاکتورهای نوروتروفیک نظیر نوروگلی، فاکتور نوروتروفیک آزاد شده از مغز، فاکتور نوروتروفیک مژگانی و تعداد بسیاری از عوامل دیگر نیز دخیل می‌باشند. فاکتور رشد عصبی اولین مولکول نوروتروفیک شناخته شده است که در بقای سلول و حفظ آن در شرایط نرمال نقش بسزایی دارد و به نظر می‌رسد که یک جزء مهم از پروسه‌های ترمیمی است. فاکتورهایی نظیر نوروگلین از

۳*۴ و الکتروپولیشینگ شده به همراه جوشکاری آرگون می‌باشد. کلاهک مخصوص بدون رزوه از جنس استنلس استیل ۳*۴ می‌باشد و کف قفس به وسیله پوشال مفروش شد. در تمام طول آزمایش پروتکل اخلاقی کار با حیوانات رعایت شد تا کمترین درد یا زجری متحمل نشوند. حیوانات تجربی به ۵ گروه ۶ تایی تقسیم شدند (جدول ۱). هیچ کدام از حیوانات هنگام تجربه واجد بیماری یا شواهد مبنی بر بیماری نبودند. در شکل اعمال استرس بی‌حرکتی در این پژوهش رت‌ها به مدت ۲ ساعت بی‌حرکتی را در روز تجربه می‌کردند. موش‌های صحرایی‌ها در داخل محدود کننده به مدت ۲۱ روز قرار گرفتند (۵).

بی‌حرکتی و عصاره برازمبل بر دانسیته نورونی در نواحی CA1 و CA2 می‌باشند اجرا گردیده تا به بررسی اثرات بی‌حرکتی و عصاره برازمبل بر دانسیته نورونی در نواحی CA1 و CA2 بپردازد.

روش بررسی

در طی این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۴ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد انجام شد، ۳۰ موش صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۱۸۰-۲۰۰ گرم از انستیتو پاستور تهیه گردیدند. حیوانات در دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد با دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری می‌شدند و هم‌چنین آب و غذا به صورت نامحدود در دسترس حیوانات قرار می‌گرفت. کاور قفس از جنس استنلس استیل

جدول ۱: گروه‌بندی حیوانات مورد آزمایش

گروه‌ها	مشخصات
گروه کنترل	دریافت روزانه آب و غذا به صورت خوراکی
استرس بی‌حرکتی	ایجاد استرس به مدت ۲ ساعت در روز
گروه تیمار ۱	استرس بی‌حرکتی + دریافت روزانه ۵۰ mg/kg عصاره برازمبل به مدت ۲۱ روز به صورت گاوژ
گروه تیمار ۲	استرس بی‌حرکتی + دریافت روزانه ۷۵ mg/kg عصاره برازمبل به مدت ۲۱ روز به صورت گاوژ
گروه تیمار ۳	استرس بی‌حرکتی + دریافت روزانه ۱۰۰ mg/kg عصاره برازمبل به مدت ۲۱ روز به صورت گاوژ

مراحل پاساژ بافتی از مغز برش‌های سائیتال سریال ۷ میکرونی تهیه شد و با رنگ آبی تولوئیدین رنگ‌آمیزی شدند (۵). ناحیه CA1 و CA2 شناسایی شدند. برای شمارش نورونی از روش نمونه‌برداری تصادفی استفاده شد و برای شمارش نورونی از روش دایسکتور استفاده گردید (۵). برای آنالیز داده‌های خام نیاز به پارامترهایی نظیر $\sum Q$ ، $\sum frame$ ، $Vdisector$ ، $Mean \pm SE$ و... است که این پارامترها این‌گونه معرفی می‌شوند:

$$\sum Q: \text{مجموع نورون‌های شمارش شده در یک نمونه}$$

$$\sum frame: \text{مجموع دفعات نمونه‌برداری شده}$$

$$Vdisector: \text{حجم چهارچوب نمونه‌برداری که برابر است با:}$$

$$Vdisector = A \text{ Frame} \times H$$

$$Aframe: \text{مساحت چهارچوب نمونه‌برداری}$$

$$H: \text{فاصله بین دو برش یا ضخامت هر برش}$$

جنس و گونه گیاه برازمبل در هر بار یوم گیاه‌شناسی گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد (IAUM) به شماره ۹۷۲۷ مورد تایید قرار گرفت. عصاره آبی-الکلی گیاه برازمبل بر اساس روش سوکسله تهیه شد. به‌طور خلاصه پس از خشک کردن سرشاخه‌های گیاه، توسط آسیاب، پودری از آن تهیه شد سپس به روش سوکسله عصاره آبی-الکلی برازمبل تهیه شد (۱۵). ۳ گروه از موش‌ها به مدت ۲۱ روز دوزهای ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ از عصاره آبی-الکلی برازمبل به روش گاوژ را دریافت کردند (۱۵). پس از ۲۱ روز از شروع آزمایش رت‌ها با تزریق داخل صفاقی مخلوط رامپون و کتامین (۶ و ۶۰ میلی‌گرم) بیهوش گردیدند (۵). برای نفوذ بهتر فیکساتور به مغز قبل از تشریح به کمک متد پر فیوزن تا حدی بافت‌های بدن فیکس شدند. پس از اتمام پرفیوزن مغز به آرامی از جمجمه خارج شد و در فرمالین نمکی ۱۰ درصد قرار داده شد. پس از

(28 ± 3) میلی‌متر مکعب هم‌چنین میانگین دانسیته نوروئی در گروه استرس با عصاره دوز ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم برابر (27 ± 3) میلی‌متر مکعب می‌باشد و در گروه تیمار با عصاره هیدروالکلی دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (22 ± 3) میلی‌متر مکعب می‌باشد که در مقایسه با گروه استرس افزایش معناداری را نشان می‌دهد ($p = 0.058$)

نمودار ۳ میانگین دانسیته نوروئی هیپوکامپ چپ در گروه استرس نسبت به کنترل کاهش معناداری را نشان می‌دهد. آنالیز آماری داده‌ها نشان می‌دهد که میانگین دانسیته نوروئی ناحیه CA1 بین گروه استرس (19 ± 3) میلی‌متر مکعب و تیمار هیدروالکلی دوز ۵۰ mg/kg (25 ± 3) میلی‌متر مکعب و میانگین دانسیته نوروئی در گروه استرس با عصاره دوز ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم برابر (27 ± 3) میلی‌متر مکعب و در گروه تیمار با عصاره هیدروالکلی دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (27 ± 3) میلی‌متر مکعب می‌باشد که در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری را نشان می‌دهد. ($p = 0.045$)

در نمودار ۴ میانگین دانسیته نوروئی در گروه استرس نسبت به کنترل کاهش معناداری را نشان می‌دهد. آنالیز آماری داده‌ها نشان می‌دهد که میانگین دانسیته نوروئی ناحیه CA2 بین گروه استرس (23 ± 3) میلی‌متر مکعب و تیمار هیدروالکلی دوز ۵۰ mg/kg (29 ± 3) میلی‌متر مکعب و میانگین دانسیته نوروئی در گروه استرس با عصاره دوز ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم برابر (26 ± 3) میلی‌متر مکعب و در گروه تیمار با عصاره هیدروالکلی دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (26 ± 3) میلی‌متر مکعب می‌باشد که در مقایسه با گروه کنترل افزایش معناداری را نشان می‌دهد ($p = 0.024$).

برای بررسی داده‌ها با کمک برنامه آماری t-test نیاز به پارامتر دیگری به نام N_v یا دانسیته تعداد نورون‌ها، می‌باشد که از طریق فرمول زیر قابل محاسبه است:

$$N_v = \frac{\Sigma Q}{\Sigma \text{ frame} \times V \text{disector}}$$

تجزیه و تحلیل آماری

برای آنالیز آماری داده‌ها از نرم‌افزار Minitab16 و آزمون ANOVA و T-test با سطح معنی‌داری ($P < 0.05$) استفاده شد و جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

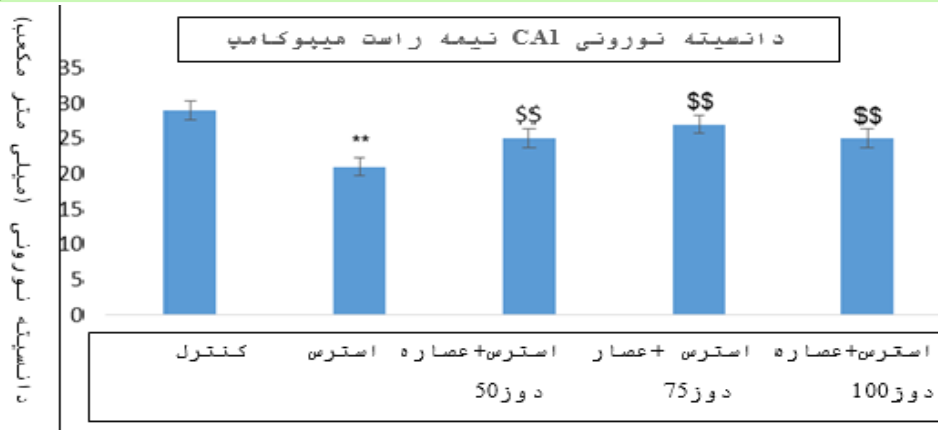
ملاحظات اخلاقی

پروپوزال این تحقیق توسط دانشگاه آزاد مشهد تایید شده است.

نتایج

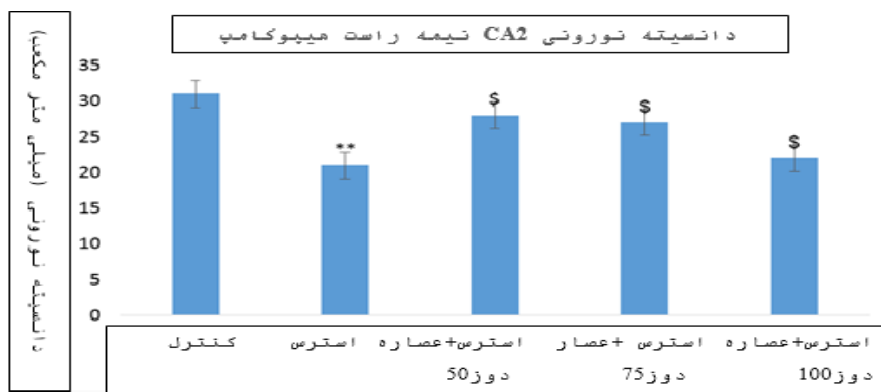
نمودار ۱ نشانگر میانگین دانسیته نوروئی ناحیه CA1 در گروه استرس نسبت به کنترل کاهش معناداری را نشان می‌دهد ($p = 0.022$). میانگین دانسیته نوروئی ناحیه CA1 بین گروه استرس (29 ± 3) میلی‌متر مکعب و تیمار هیدروالکلی دوز ۵۰ mg/kg (25 ± 3) میلی‌متر مکعب هم‌چنین میانگین دانسیته نوروئی در گروه استرس با عصاره دوز ۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم برابر (27 ± 3) میلی‌متر مکعب و در گروه تیمار با عصاره هیدروالکلی دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (25 ± 3) میلی‌متر مکعب می‌باشد که در مقایسه با گروه استرس افزایش معناداری را نشان می‌دهد ($p = 0.022$)

نمودار ۲ میانگین دانسیته نوروئی ناحیه CA2 در گروه استرس نسبت به کنترل کاهش معناداری را نشان می‌دهد. میانگین دانسیته نوروئی ناحیه CA2 بین گروه استرس (21 ± 3) میلی‌متر مکعب و تیمار هیدروالکلی دوز ۵۰ mg/kg



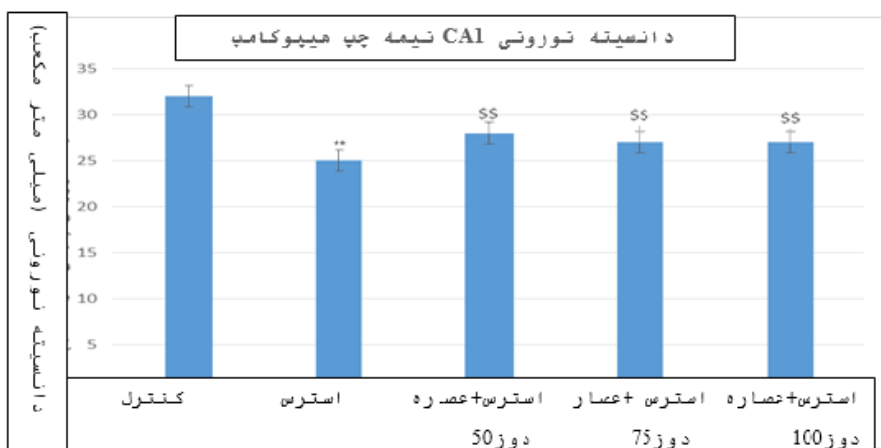
نمودار ۱: مقایسه میانگین دانسیته نورونی ناحیه CA1 در گروه کنترل، استرس با سه گروه

(استرسی + تیمار شده با عصاره هیدروالکلی گیاه برازمبل $n=6$ ، **مقایسه کنترل منفی با کنترل \$\$\$مقایسه تیمارها با کنترل منفی)



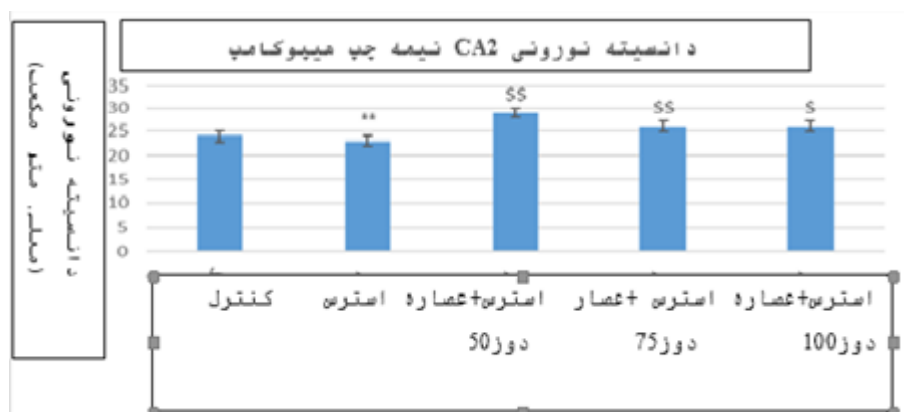
نمودار ۲: مقایسه میانگین دانسیته نورونی ناحیه CA2 در گروه کنترل، استرس با سه گروه (استرسی + تیمار شده با عصاره هیدروالکلی گیاه برازمبل) ($n=6$)

**مقایسه کنترل منفی با کنترل \$مقایسه تیمارها با کنترل منفی



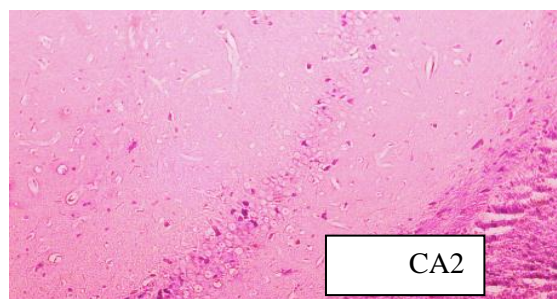
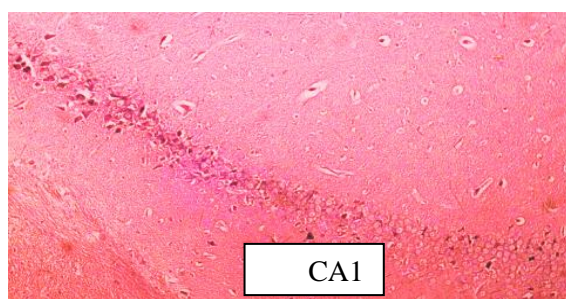
نمودار ۳: مقایسه میانگین دانسیته نورونی ناحیه CA1 در گروه کنترل، استرس با سه گروه (استرسی + تیمار شده با عصاره هیدروالکلی گیاه برازمبل) ($n=6$)

**مقایسه کنترل منفی با کنترل \$مقایسه تیمارها با کنترل منفی

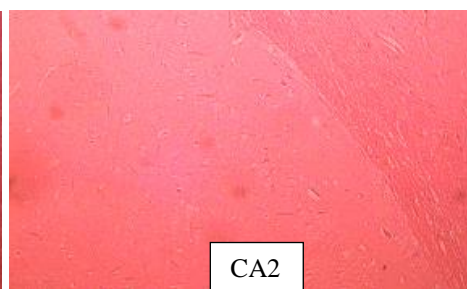
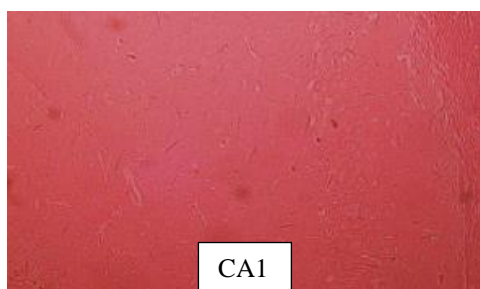


نمودار ۴: مقایسه میانگین دانشیته نوروئی ناحیه CA2 در گروه کنترل، استرس با سه گروه

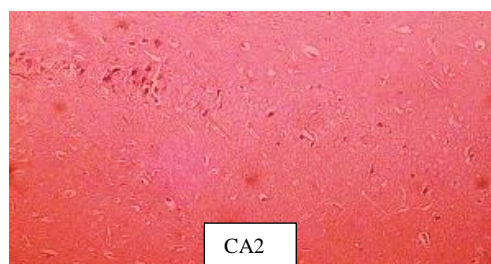
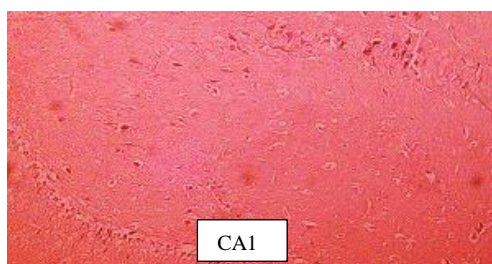
(استرسی + تیمار شده با عصاره هیدروالکلی گیاه برازمبل) (n=6), **مقایسه کنترل منفی با کنترل \$\$\$مقایسه تیمارها با کنترل منفی



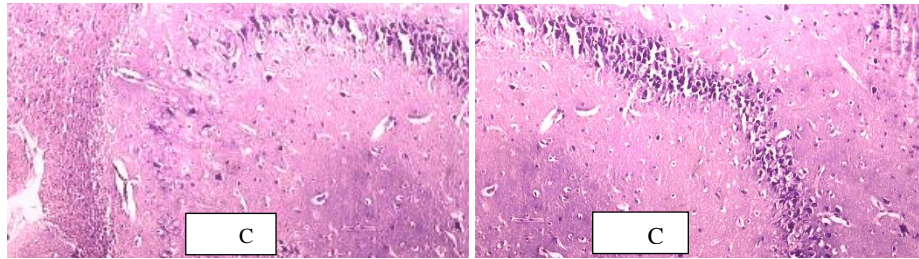
شکل ۱: برش ساژیتال از مناطق مختلف نیمه راست هیپوکامپ در گروه کنترل با رنگ آمیزی آبی تولوئیدین و اریتروزین (X۴۰)



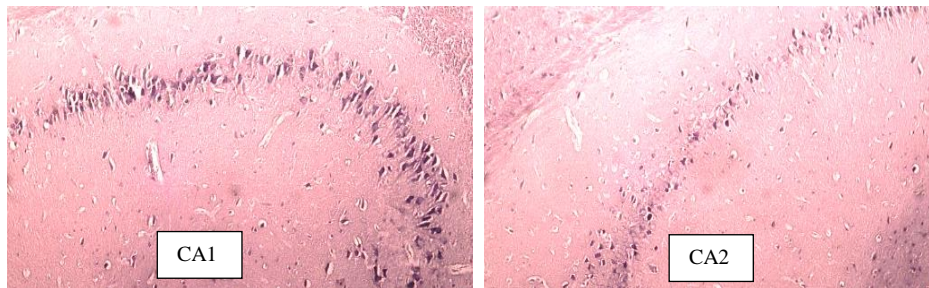
شکل (۲): برش ساژیتال از مناطق CA1 و CA2 نیمه راست هیپوکامپ در گروه استرس با رنگ آمیزی آبی تولوئیدین و اریتروزین (X۴۰)



شکل (۳): برش ساژیتال از مناطق CA1 و CA2 نیمه راست هیپوکامپ در گروه استرس + عصاره هیدروالکلی دوز ۵۰ گیاه برازمبل با رنگ آمیزی آبی تولوئیدین و اریتروزین (X۴۰)



شکل (۴): برش ساژیتال از مناطق CA1 و CA2 نیمه راست هیپوکامپ در گروه استرس + عصاره هیدروالکلی دوز ۷۵ گیاه برازمبل با رنگ آمیزی آبی تولوئیدین و اریتروزین (x۴۰)



شکل (۵): برش ساژیتال از مناطق CA1 و CA2 نیمه راست هیپوکامپ در گروه استرس + عصاره هیدروالکلی دوز ۱۰۰ گیاه برازمبل با رنگ آمیزی آبی تولوئیدین و اریتروزین (x۴۰)

افزایش معناداری را نشان می‌دهد (نمودار ۳). میانگین دانسیته نورونی ناحیه CA2 هیپوکامپ چپ در گروه استرس و تیمار با عصاره هیدروالکلی برازمبل با دوزهای ۵۰ mg/kg (29 ± 3) میلی‌متر مکعب، ۷۵ mg/kg (26 ± 3) میلی‌متر مکعب، ۱۰۰ mg/kg (26 ± 3) میلی‌متر مکعب افزایش معناداری نشان می‌دهد (نمودار ۴). با توجه به شکل دانسیته نورونی در مناطق CA1، CA2، هیپوکامپ در گروه استرس + عصاره هیدروالکلی دوز ۵۰ گیاه برازمبل نسبت به گروه کنترل کاهش پیدا کرده است. با توجه به شکل ۱ دانسیته نورونی در مناطق CA1، CA2، هیپوکامپ در گروه استرس + عصاره هیدروالکلی دوز ۷۵ گیاه برازمبل نسبت به گروه کنترل افزایش پیدا کرده است. با توجه به شکل ۲ دانسیته نورونی در مناطق CA1، CA2، هیپوکامپ در گروه استرس + عصاره هیدروالکلی دوز ۱۰۰ گیاه برازمبل نسبت به گروه کنترل افزایش پیدا کرده است. با توجه به شکل ۳ دانسیته نورونی در مناطق CA1، CA2، هیپوکامپ در گروه استرس + عصاره هیدروالکلی دوز ۱۰۰ گیاه برازمبل نسبت به گروه کنترل افزایش پیدا کرده است. یکی از اهداف اصلی

بحث

نتایج این تحلیل نشان دادند که میانگین دانسیته نورونی ناحیه CA1 بین گروه کنترل منفی دارای استرس با گروه تیمار با عصاره هیدروالکلی گیاه برازمبل دوزهای ۵۰، ۷۵، ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش معناداری مشاهده شد (نمودار ۱). میانگین دانسیته نورونی ناحیه CA2 بین گروه کنترل منفی دارای استرس و گروه‌های استرسی با دوزهای ۵۰ mg/kg (28 ± 3) میلی‌متر مکعب و ۷۵ mg/kg (27 ± 3) میلی‌متر مکعب افزایش معناداری دارد اما میانگین دانسیته نورونی در گروه استرس همراه با عصاره ۱۰۰ mg/kg (22 ± 3) میلی‌متر مکعب با مقایسه با گروه استرس تفاوت معناداری را نشان نداد (نمودار ۲). مقایسه دانسیته نورونی ناحیه CA1 هیپوکامپ چپ در گروه استرس و گروه تیمار با دوز ۵۰ mg/kg (25 ± 3) میلی‌متر مکعب و دوز ۷۵ mg/kg (27 ± 3) میلی‌متر مکعب، گروه تیمار با دوز ۱۰۰ mg/kg (27 ± 3) میلی‌متر مکعب که

اکسیژن بیشتری داشته و در نتیجه تولید رادیکال‌های آزاد بیشتری کرده و در مواجهه با تغییرات اکسیژن نسبت به مناطق دیگر مغز حساس‌ترند. گونه‌های اکسیژن فعال می‌توانند در مغز با اسیدهای چرب اشباع نشده واکنش داده و پراکسیداسیون لیپدها را افزایش دهند. آنتی‌اکسیدان‌ها سبب کاهش پراکسیداسیون‌های لیپدها شده و از این طریق سبب کاهش اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد و کاهش پلاستیسیته سیناپسی و تقویت طولانی‌مدت هیپوکامپ می‌شوند (۲۳). در سال‌های اخیر مشخص شده که انواع رادیکال‌های آزاد و اکسید کننده‌های وابسته در فرایند پیری و پاتوژنز بیش از صد بیماری نقش دارند. سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در حالت طبیعی در تعادل با سرعت تولید رادیکال‌ها فعال می‌باشد و این امر در حفظ هموستاز بدن مفید است و در انجام فعالیت‌های فیزیولوژیک مثل التیام زخم‌ها، دفاع در برابر میکروارگانیسم‌ها و غیره نقش دارد. در تحقیقی دیگر نشان داده شده که عصاره سرشاخه‌های گلدار برازمل به علت وجود ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و آنتوسیانینی دارای خاصیت ضدانگلی، آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی می‌باشد (۲۴). هم‌راستا با پژوهش‌های دیگر، برازمل به دلیل داشتن اثر آنتی‌اکسیدانی بالا موجب جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد و کاهش آسیب‌های بافتی و سلولی می‌شود (۲۵). تحقیقات نیز نشان داده عصاره و اسانس بخش هوایی گیاه برازمل در غلظت‌های غیرسمی برای سلول، خاصیت آنتی‌اکسیدانی زیادی دارد (۲۶). از آنجایی که این گیاه دارای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند فنلی، فلاونوئیدی و آنتوسیانینی می‌باشد، می‌تواند باعث فرایند نورون‌ز شود. مطالعات نشان می‌دهد که بالا بودن ترکیبات فنولی دلیل عمده بالا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی بعضی از عصاره‌ها از جمله عصاره‌های قطبی باشد. زیرا بر اساس شواهد موجود ارتباط مثبتی بین میزان ترکیبات فنولی و قدرت آنتی‌اکسیدانی گیاهان وجود دارد (۱۳). به نظر می‌رسد که فلاونوئیدها موجب حفاظت از نورون‌ها در برابر آسیب ناشی از نوروٹوکسین‌ها و عوامل التهاب‌زای سیستم عصبی شده، هم‌چنین دارای توانایی بالقوه در بهبود حافظه و یادگیری و عملکردهای شناختی

محققان کشف داروهایی است برای تحریک مناطقی از مغز که به‌وسیله جایگزینی، سلول‌ها ترمیم خودبه‌خودی را انجام می‌دهند. تعدادی از مطالعات در این زمینه نشان دادند که آکسون‌های مغز توانایی رشد مجدد را بعد از درجاتی از صدمات دارند. برای این که سلول‌های جدید مغزی توسعه پیدا کنند سلول‌های بنیادی عصبی چند ظرفیتی در مغز تقسیم شده و به نورون‌ها و سلول‌های گلیال جدید تبدیل می‌شوند. برای بالغ شدن این سلول‌ها از سلول‌های چند ظرفیتی جدا می‌شوند و این نورون‌ها با نورون‌های فعال ارتباط برقرار می‌کنند و بیش از یک ماه طول می‌کشد تا نورون‌های جدید قادر به ارسال و دریافت پیام‌های جدید شوند، که این نشان می‌دهد نورون‌ز یک فرایند کاملاً کنترل شده است. نورون‌ز توسط فاکتورهای رشد کنترل می‌شود که این فاکتورها می‌توانند تکامل سلول‌های جدید را رهبری کنند. فاکتورهای رشد دیگری از جمله فاکتور نوروتروفیک نیز سلول را زنده نگه می‌دارند. فاکتورهای نوروتروفیک نظیر نوروگلی، فاکتور نوروتروفیک آزاد شده از مغز، فاکتور نوروتروفیک مژگانی و تعداد بسیاری از عوامل دیگر نیز دخیل می‌باشند. فاکتور رشد عصبی اولین مولکول نوروتروفیک شناخته شده است که در بقای سلول و حفظ آن در شرایط نرمال نقش بسزایی دارد و به نظر می‌رسد که یک جزء مهم از پروسه‌های ترمیمی است. فاکتورهایی نظیر نوروگلین از ارگان‌های هدف محیطی آزاد شده و از طریق انتقال اکسونی روبه جلو منتقل می‌شوند (۱۹). آکسون‌ها این توانایی را دارند که به‌سرعت جهت خود را در پاسخ به غلظت فاکتورهای رشد عصب تغییر دهند. انواع زیادی از مولکول‌های اتصال‌دهنده سلول به سلول و سلول به ماتریکس خارجی از جمله ایمونوگلوبولین، اینتگرین و کاده‌رین در طی ترمیم و تکامل اعصاب نقش دارند (۲۲). یکی از مکانیسم‌های احتمالی دیگر در بهبود یادگیری و نورون‌ز ممکن است در خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه برازمل نهفته باشد. نشان داده شده است که مقدار تولید رادیکال‌های آزاد در هر نقطه از مغز بستگی به میزان مصرف اکسیژن آن ناحیه دارد. لذا سلول‌های هیپوکامپی که در جریان فعالیت‌های نظیر یادگیری مصرف

نتایج این مطالعه تجربی، احتمالاً عصاره هیدروالکلی برازمبل به دلیل داشتن مواد پلی فنلی مانند فلاونوئیدها باعث افزایش دانسیته نورونی هیپوکامپ مغز به دلیل خاصیت آنتی اکسیدانی بالا، تعامل با آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، جلوگیری از تولید رادیکال‌های آزاد و واکنش با آن‌ها، کاهش انتشار سایتوکاین‌های التهابی و کاهش فعالیت سلول‌های التهابی از ایجاد تخریب بافتی در بافت عصبی جلوگیری می‌کند (۲۸). مواد دارای خاصیت آنتی اکسیدانی با ایجاد پایداری در کمپلکس نسخه برداری ژن، سبب باز تولید و حفاظت این سلول‌ها در برابر آسیب‌های بافتی می‌شوند (۲۹).

نتیجه‌گیری

بنابراین گیاه برازمبل به دلیل مواد پلی فنلی با خاصیت آنتی اکسیدانی بالا برای جلوگیری از آسیب و بهبود عملکرد سیستم عصبی در افرادی که در معرض استرس هستند توصیه می‌گردد هر چند در این زمینه باید تحقیقات بیوشیمیایی و فارماکولوژی بیشتری انجام شود.

سپاس‌گزاری

این مقاله حاصل پایان‌نامه برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته فیزیولوژی جانوری بود. بدین‌وسیله از همه اساتید گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد به خاطر همکاری‌های بی‌دریغ تشکر و قدردانی می‌نماییم.

حامی مالی: ندارد

تعارض در منافع: وجود ندارد.

می‌باشند. در مرحله اول این ترکیبات منجر به رگ‌زایی و نورونز خصوصاً در هیپوکامپ و مهار اپوپتوزیس ناشی از گونه‌های نوروتوکسیک می‌شوند (۲۷). فلاونوئیدها هم‌چنین با اثر بر پروتئین‌کینازها، لپید کینازها، و مسیر MAP کینازها موجب بهبود ارتباطات نورونی در مناطق شکنج دندانه‌ای و ناحیه CA3 هیپوکامپ و به دنبال آن منجر به بهبود LTP می‌شوند. این ترکیبات روی مسیر ERK/CREB اثر کرده و آن را فعال می‌کند (۲۸). عصاره گیاه برازمبل به‌عنوان یک منبع با ارزش از پلی فنول‌ها و فلاونوئیدها شناخته شده است که اثرات درمانی گیاه برازمبل، علاوه بر فعالیت ضدالتهابی آن به فعالیت آنتی اکسیدانی اش نیز قابل استناد می‌باشد و نتایج به‌دست آمده در این تحقیق با افزایش دانسیته نورونی در گروه‌های تیمار با عصاره هیدروالکلی گیاه برازمبل با نتایج دانشمندان هم‌سوئی دارد. در حال حاضر بیش از ۵۰ ترکیب فنولیک متعلق به چندین گروه به نام فنولیک اسیدها و مشتقات آن‌ها در برگ‌های گیاه برازمبل کشف شده است (۲۹). لذا به‌نظر می‌رسد که اثرات عصاره برازمبل بر نورونز ناشی از ترکیبات پلی فنولی و فلاونوئیدهای موجود در این عصاره باشد و نتایج به‌دست آمده در این تحقیق با نتایج دیگر دانشمندان هم‌سوئی دارد. در مطالعه حاضر افزایش دانسیته نورونی در نواحی CA1 و CA2 هیپوکامپ در گروه‌های تیمار شده با عصاره هیدروالکلی گیاه برازمبل به‌علت وجود ترکیبات پلی فنولی و فلاونوئیدها، کارتنوئیدها و اسیدهای چرب و خاصیت آنتی اکسیدانی قوی موجود در این عصاره باشد. با توجه به مطالب بیان شده و طبق

References:

- 1-Tavakoli M, Arab Bani Asad F, Bani Asad Sh, Amin F. *The Effect of Immobilization Stress on the Pruritus Behavior in Male Rats*. Shahrekord Med Sci J 2009; 13(2): 13-8.
- 2-Aoyagi Y, Takahashi Y, Satake Y, Takeya K, Aiyama R, Matsuzaki T, et al. *Cytotoxicity of*

- Abietanediterpenoids from Perovskiaabrotanoides and their Semisynthetic Analogue*. Bioorganic and Medicinal Chemistry 2006; 14: 5285-91.
- 3-Man O, Willhite DC, Crasto CJ, Shepherd GM, Gilad Y. *A Framework for Exploring Functional Variability in Olfactory Receptor Genes*. PLoS ONE 2007; 2(8): e682.

- 4- Boger DL, Miyauchi H, Du W, Hardouin C, Fecik RA, Cheng H, et al. *Discovery of a Potent, Selective, and Efficacious Class of Reversible Alpha-Ketoheterocycle Inhibitors of Fatty Acid Amide Hydrolase Effective as Analgesics*. J Med Chem 2005; 48(6): 1849-56.
- 5- Behnam- Rasouli M, Nikravesh MR, Mahdavi-Shahri N, TehranipurM. *Post- Operative Time Effects after Sciaticnerre Crashon the Number of Alpha Motonurons, Using a Sterological Counting Method (Dissector)*. Yranian Biomed J 2000; 4(1): 45-9.
- 6- Ferres I, Planas AM. *Signaling of cell Deathand Cell Surviral Following Foca Cerebral Is Chemin: Life and Doath Struggle in the Penumbra*. J Neuropathol Exp Neurol 2003; 62(4): 329-39.
- 7- Buggy DJ, Toogood L, Maric S, Sharpe P, Lambert DG, Rowbotham DJ. *Lack of Analgesic Efficacy of Oral Delta-9-Tetrahydrocannabinol in Postoperative Pain*. Pain 2003; 106(1-2): 169-72.
- 8- Aquilera G, Kiss A, Sunar-Akhasak B. *Hyperreninemic Hypouldosteronism after Chronic Stress in the Rat*. J Clin Inv 1995; 96(3): 1512-19.
- 9- Guytan AC, Hall JE. *Textbook of Medial Physiology*. 3rd. Philadelphia Saunders 2006; 643-5.
- 10- Zoubeik M, Mohamedali M, Henni A. *Experimental Solubility and Thermodynamic Modeling of CO2 in Four New Imidazolium and Pyridinium-Based Ionic Liquids*. Fluid Phase Equilibria 2016; 419: 67-74.
- 11- Arabi F, Moharrampour S, Sefidkon F. *Chemical Composition and Insectidal Activity of Essential Oil Perovskia Abrptanoides (Lamiaceae) Against Sitophilus Oryzae and Tribolium Castaneum*. Inter J Tropical Insect 2008; 28(3): 144-50.
- 12- Ballabh B, Chaurasia OP, Ahmed Z, Balasingh SH. *Traditional Plants of Cold Desert Ladakh-Used against Kidney and Urinary Disorders*. Ethnopharmacology 2008; 118(2): 331-39.
- 13- Ahmadi R, Abbasi Z, Askari. *Effects of Acute and Chronic immobility Impact Movement Stress on Serum Levels of TT4, T3, and TSH Hormones in Male Rats*. Tabriz Med Sci J 2013; 35(1): 6-11.
- 14- Esmaeili S, Naghibi F, Mosaddegh M, Sahranavard SH, Ghafari S, Abdullah NR. *Screening of Antiplasmodial Properties Traditionally Used Among Some Iranian Plants*. Ethnopharmacol 2008; 121(3): 400-4.
- 15- Tehranipour M, Sabzalizade M. *Effect of Cannabis Sativa Alcoholic Extract on Hippocampus Neuronal Density in Rats*. J Gorgan Univ Med Sci 2011; 13 (2): 9-15. [Persian]
- 16- Ferro M A, Avison WR, Campbell M K, Speechley KN. *The Impact of Maternal Depressive Symptoms on Health-Related Quality of Life in Children with Epilepsy: A Prospective Study of Family Environment as Mediators and Moderators*. Epilepsia 2011; 52(2): 316-25.
- 17- Mirzaei M, Shafei F, Niakan S. *Effect of Bleaching on Shear Bond Strength of Composite Resins to Bovine Enamel Using Three Bonding Agents*. J Islam Dent Assoc Iran 2013; 25(2): 101-8.
- 18- Vukovic N, Milosevic T, Sukdolak S, Splujic S. *Antimicrobial Activites of Essential Oil ND Methanol Extract of Teucrium Montanum*. ADVertise with oxford J 2007; 4(S1): 17-20.
- 19- Obame LC, Edou P, Bassole HN, Traone AS. *Chemical Composition, Antioxidant and*

- Antimicrobial Essential Oil of Dracryodes Edulis From Gabon*. African J Microbial 2008; 2(6): 148-52.
- 20-Hart PH, Brand C, Carson CF, Riley TV, Prager RH, Finaly-Jones JJ. *Terpenin-4-Ol, the Main Component of the Essential Oil of Melaleuca Alternifolia (Tea Tree Oil), Suppresses Inflammatory Mediator Production by Activated Human Monocytes*. Inflamm Res 2000; 49(11): 619-26.
- 21-Schalkwijk CG, Stehouwer CD. *Vascular Complication in Diabetes Mellitus: The Role of Endothelial Dysfunction*. Clin Sci 2005; 109:143-59.
- 22-Jennifer L, Dougherty MS. *Impact of Child-Centered Play Therapy on Children of Different Developmental Stages*. Texas: University of North Texas; 2006: 119.
- 23-Orlowski JP, Cramer CL, Fiallos MR. *Diabetic Ketoacidosis in the Pediatric ICU*. Pediatr Clin Am 2008; 55(3): 577-587.
- 24-Akhondzadeh Sh, Fallah-Pour H, Afkham Kh, Jamshidi AH, Khalighi-Cigaroudi F. *Comparison of Crocus Sativus L, And Imoperamine in the Treatment of Mild to Moderate Depression: A Pilot Double-Blind Randomized Trial*. BMC Complement Altern Med 2004; 4: 12-6.
- 25-Lee L, Harrington R, Louie B, Newschaffer C. *Children with Autism: Quality of Life and Parental Concerns*. J Autism Dev Disord 2008; 38(6): 1147-60.
- 26-Murrow JR, Sher S, Ali S, Uphoff I, Patel R, Porkert M, et al. *The Differential Effect of Statins on Oxidative Stress and Endothelial Function: Atorvastatin versus Pravastatin*. J Clin Lipidol 2012; 6(1): 42-9.
- 27-Panico AM, Cardile V, Garufi F, Puglia C, Bonina F, Ronsisvalle G. *Protective Effect of Capparis Spinosa on Chondrocytes*. Life Sci 2005; 77(20): 2479-88.
- 28-Egger HL, Angold A. *Common Emotional and Behavioral Disorders in Preschool Children: Presentation, Nosology, and Epidemiology*. J Child Psychol Psychiatry 2006; 47(3-4): 313- 37.
- 29-Yoshino K, Miyauchi Y, Kanetaka T, Takagi, Kogo K. *Anti-Diabetic Activity of a Leaf Extract Prepared from Salacia Reticulate in Mice*. Biosci Biotechnol Biochem 2009; 73(5): 1096-104.

The Effect of Hydroalcoholic Extract of *Perovskia Abrotanoides* on Neuronal Density of Rats under Chronic Immobility Stress

Maryam Tehranipour¹, Rahele Pakjame^{†2}, Saiede Zafar Balanezhad³

Original Article

Introduction: The number of neurons in the hippocampus can have a direct effect on its function. The plant Brazembel from the mint family may have antioxidant properties. The aim of the present study was to investigate the effects of stress and Brazmble extract on neuronal density of CA1, CA2 in male rats.

Methods: In this experimental study, Wistar rats were divided into 6 groups (n=5), including control, and negative control under stress, also experimental group, including stress and get Brazmbl doses of the extract mL 50, mL 75 and mL 100. Limiting stress for 21 days, the rats were exposed in 2 hours. Groups receiving the extract for 21 days, to get inside limiting extracts were gavaged. After removal of the brain by perfusion, the hippocampus was excised and stained, and the neuronal density was calculated by dissector and metasteriology. The results were analyzed by Minitab 16 software with t-test and ANOVA at a significant level (P <0.05).

Results: Statistical analysis of the data showed that the mean neuronal density in the stress group compared to the control in CA1 and CA2 had a significant decrease (p <0.01). The mean neuronal density of CA1 region between the stress group (29 ± 3) and hydroalcoholic treatment at 50 mg / kg (25 ± 3) showed a significant increase. In addition, the mean neuronal density in the stress group with 75 mg / kg extract (27±3) and in the group treated with hydroalcoholic extract was 100 mg / kg (25 ± 3). Mean neuronal density of CA2 region between the stress (21 ± 3) and hydroalcoholic treatment at 50 mg / kg (28 ± 3) groups showed a significant increase (p <0.01). The mean neuronal density in the stress group with 75 mg / kg extract was 27 ± 3 and in the hydroalcoholic extract treatment group was 100 mg / kg (22 ± 3), which increased significantly compared to the stress group (p <0.01).

Conclusion: The results of the current study show that the hydroalcoholic extract of plant Bromzebel probably increases the neuronal density of the brain hippocampus due to its polyphenolic substances such as flavonoids, which is due to its high antioxidant properties.

Keywords: Immobilization Stress, *Perovskia abrotanoides*, Hydroalcoholic Extract, Hippocampus.

Citation: Tehranipour Maryam, Pakjame Rahele, Zafar Balanezhad Saiede. **Effect of Hydroalcoholic Extract of *Perovskiaabrotanoides* on Neuronal Density of Hippocampus in Rats with Immobility Stress.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2020; 28(6): 2781-93.

¹Department of Biology, Islamic Azad University, Mashhad Branch, Mashhad, Iran.

²Department of Biology, Islamic Azad University, Mashhad Branch, Mashhad, Iran.

³Department of Biology, Islamic Azad University, Mashhad Branch, Mashhad, Iran.

*Corresponding author: Tel: 09151532660, email: afsaneh.pak94@gmail.com