



Effects of *Zizyphus jujuba* Extract on Motor Coordination Impairment Induced by Bilateral Electric Lesions of the Nucleus Basalis of Meynert in Rat

Zahra Rabiei, Mahmoud Rafieian-kopaei*

Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.

Received: 20 Jul 2013

Accepted: 21 Nov 2013

Abstract

Introduction: Alzheimer's Disease (AD) is a chronic neurological disorder characterized by memory impairment, cognitive dysfunction, behavioral disturbances, and deficits in activities of daily living. AD has been found to be associated with a cholinergic deficit in the post-mortem brain characterized by a significant decrease in acetylcholine amount and loss of cholinergic neurons of the nucleus basalis of Meynert (NBM). This study investigated the effect of *Zizyphus jujuba* (ZJ) extract on motor activity in NBM-lesioned rat model of AD and intact rats.

Methods: In this study, 49 wistar rats were divided into 7 groups. Rats received bilateral electrolytic lesions of the NBM. The control and sham group received distilled water while NBM-lesioned groups received ZJ extract via gastric gavage for 20 days. Intact rats received ZJ extract for 20 days without any surgery. The motor activity assessed with rota-rod apparatus. Data were compared using one way ANOVA followed by LSD post test.

Results: ZJ extract for 20 days improved motor activity in NBM-lesioned rats and intact rats that received extract at the dose of 1000 mg/kg.

Conclusion: Results suggest that ZJ extract can improve the motor coordination both in NBM-lesioned rats and in intact rats.

Key words: NBM-lesioned, *Zizyphus jujuba*, rota-rod, motor coordination

* Corresponding author e-mail: rafieian@Yahoo.Com
Available online at: www.phypha.ir/ppj

اثر عصاره گیاه عناب بر اختلالات هماهنگی - حرکتی القا شده توسط ضایعات الکتریکی دو طرفه هسته‌های قاعده‌ای ماینرت در موش صحرائی

زهرا ربیعی، محمود رفیعیان کوهپایه‌ای*

مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد

پذیرش: ۳۰ آبان ۹۲

دریافت: ۲۹ تیر ۹۲

چکیده

مقدمه: بیماری آلزایمر (AD) یک اختلال مزمن عصبی است که با اختلال حافظه، اختلال شناختی، اختلال رفتاری و نقص در فعالیت‌های زندگی روزمره مشخص می‌شود. بیماری آلزایمر باعث نقص در سیستم کولینرژیک مغز شده که با کاهش قابل توجهی در میزان استیل کولین و از دست دادن نورون‌های کولینرژیک هسته‌های قاعده‌ای ماینرت همراه است. هدف از این مطالعه بررسی اثر عصاره میوه عناب بر فعالیت‌های حرکتی در موش‌های صحرائی مدل آلزایمری و موش‌های صحرائی سالم است.

روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۴۹ سر موش صحرائی نر از نژاد ویستار به ۷ گروه آزمایشی تقسیم و جهت ایجاد مدل آلزایمری، هسته ماینرت به صورت دوطرفه با جریان الکتریکی تخریب شد. گروه کنترل و شم آب مقطر و گروه‌های آلزایمری عصاره هیدروالکلی عناب را به صورت تزریق داخل صفاقی به مدت ۲۰ روز دریافت کردند. گروه‌های سالم بدون هرگونه جراحی فقط عصاره دریافت کردند. فعالیت حرکتی موش‌های صحرائی با دستگاه روتارود سنجیده شد. داده‌ها با استفاده از آزمون ANOVA و تست تعقیبی LSD تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: تجویز عصاره عناب با دوز ۱۰۰۰ میلی گرم به مدت ۲۰ روز، فعالیت‌های حرکتی را در موش‌های صحرائی آلزایمری به طور چشمگیری بهبود بخشید همچنین این عصاره فعالیت حرکتی را در موش‌های صحرائی سالم افزایش داد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد عصاره گیاه عناب در موش‌های صحرائی آلزایمری و سالم باعث بهبودی تعادل حرکتی می‌شود.

واژه‌های کلیدی: تخریب هسته ماینرت، گیاه عناب، روتارود، هماهنگی - حرکتی

مقدمه

کمک پیدا می‌کند و ممکن است توانایی کنترل ادرار و مدفوع را هم از دست بدهد. بیمار دچار زوال عقل، ممکن است در تکلم و یافتن کلمات مناسب مشکل پیدا کند و در نتیجه کم حرف و گوشه‌گیر شود. بتدریج ممکن است توانایی حرکتی بیمار هم دستخوش آسیب شده و مکرراً تعادلش را از دست داده و زمین بخورد [۱۱].

محققان در اجلاس سالانه جمعیت آلزایمر در شهر ونکور کانادا تحقیقاتی را ارائه دادند که نشان می‌دهد قدرت افراد در راه رفتن یا نوع راه رفتن چه بسا نشان از ابتلا به آلزایمر دارد. این تحقیقات نشان داد که کندی حرکت و تغییر نوع راه رفتن با تشدید پسرقت ذهنی در ارتباط است. بیماران مبتلا به

بیماری آلزایمر که با اختلال پیشرونده قوای ذهنی و اختلالات رفتاری مشخص می‌گردد شایع‌ترین فرم دمانس (زوال عقلی) می‌باشد [۱۳]. میزان بروز اختلال آلزایمر به شکل هشدار دهنده‌ای در حال افزایش است و در حال تبدیل شدن به یک دغدغه اجتماعی در بسیاری از کشورهاست [۱۱]. در موارد شدید بیمار برای انجام کارهای اولیه شخصی نیاز به

Rafieian@yahoo.com

www.phypha.ir/ppj

* نویسنده مسئول مکاتبات:

وبگاه مجله:

آلزایمر کندتر از بیمارانی که از مشکل ذهنی متوسطی رنج می‌برند، راه می‌روند و این بیماران نیز به نوبه خود از افراد سالم کندتر حرکت می‌کنند [۹].

محققان مرکز مایو کلینیک آمریکا شیوه راه رفتن بیش از ۱۳۰۰ بیمار را زیر نظر گرفتند و برای هر یک از بیماران دو یا چند جلسه اختصاص داده و در جریان آن آزمایش‌های ذهنی و مهارت‌های راه رفتن را در طول دوره ای ۱۵ ماهه انجام دادند. این نتایج نشان داد کاهش مهارت‌های ذهنی با کندی راه رفتن و برداشتن گام‌های کوتاه در ارتباط است. این تحقیقات امکان این را فراهم می‌سازد که از تغییر شیوه راه رفتن به عنوان یک هشدار زود هنگام درباره ابتلا به پسرقت ذهنی استفاده کنیم [۷].

محققان ژاپنی دانشکده پزشکی دانشگاه "Tohoku" روی ۵۲۵ فرد بالای ۷۴ سال انجام دادند و آنها این افراد را تحت آزمایش‌های عصبی، فیزیولوژیک و بدنی برای ارزیابی ارتباط بین کیفیت راه رفتن و ابتلا به آلزایمر قرار دادند. نتایج این تحقیقات نشان داد که کاهش قدرت راه رفتن با کاهش مهارت‌های ذهنی همزمان است و سرعت راه رفتن تا حد زیادی با افزایش علائم آلزایمر کاهش می‌یابد لذا نباید به راه رفتن به عنوان یک فعالیت عادی یا خودکار و مستقل از قدرت ذهنی نگاه کرد [۱۳].

سه استراتژی اصلی برای درمان نقایص شناختی در بیماری آلزایمر شامل جایگزینی کمبود استیل کولین، محافظت از نورون‌ها و تولید نورون‌های جدید است [۱۱]. بررسی بیوشیمیایی مغز بیماران دارای آلزایمر در دهه ۱۹۷۰ نشان داد که در سطح نئوکورتکس کمبود شدید استیل کولین و آنزیم مسئول سازنده آن استیل کولین ترانسفراز وجود دارد [۲۰]. مطالعات نشان داده که شدت فراموشی در بیماری آلزایمر به میزان زیادی به کاهش نورونها در هسته قاعده ای با سلولهای درشت مغز (NBM: nucleus basalis of meynert) وابسته است که با کاهش معنی داری در مقدار آنزیم استیل کولین ترانسفراز در قشر و آمیگدال و در نتیجه اختلال یادگیری همراه می‌شود [۶]. کاهش در عملکرد حرکتی و کاهش در حافظه دو پارامتر رفتاری اصلی هستند که در دوران پیری در انسان و حیوانات تغییر می‌یابند. این تغییرات حتی در غیاب بیماری نورودژنراتیو خاص که مرتبط با سن باشد نیز اتفاق

می‌افتد [۹].

چندین داروی تقویت کننده استیل کولین بعدها برای درمان آلزایمر ساخته شدند که عبارت بودند از تاکرین، دناپزیل، ریواستیگمین، گالاتامین و تمام این تقویت کننده‌های کولینرژیک برای درمان آلزایمر خفیف تا متوسط مورد تایید قرار گرفته‌اند ولی همراه با عوارض زیادی هستند [۵]. امروزه تلاش زیادی برای تهیه داروهای جدید و جانشین‌های مناسب می‌شود و در این رابطه به داروهای گیاهی توجه خاصی شده است. عناب یکی از این مواد است که دارای خواص دارویی زیادی می‌باشد. میوه عناب ابتدا سبز رنگ است ولی پس از رسیدن به رنگ قرمز درآمده و چروک می‌خورد. عناب آرامش‌بخش و ضد بد خلقی بوده [۱۴] و در طب سنتی چین و کره از آن به عنوان دارویی که سبب کاهش اضطراب می‌شود و تقویت کننده معده و طحال و سیستم گوارشی است استفاده می‌شده است [۱۴]. عصاره گیاه عناب در بین ۵۰ گیاه مورد بررسی بالاترین اثر را بر فعالسازی استیل کولین ترانسفراز (۳۴،۱٪) در محیط *in vitro* داشته است و ترکیب شناخته شده‌ای که در این عصاره وجود داشته و این اثر را ایجاد می‌کند *cis-9-octadecenoamide* یا *oleamide* است [۱۲].

تحقیقات اخیر نیز نتایج امیدوار کننده‌ای از اثر داروهای گیاهی در درمان یا پیشگیری بیماری‌های مختلف از جمله مشکلات حافظه [۸]، حرکت [۲۶]، سکنه‌های مغزی [۲۲]، قلبی-عروقی [۲۴] و سرطان [۱] از خود نشان داده‌اند. این اثرات اگرچه می‌تواند مربوط به مواد اختصاصی آنها باشد ولی اکثراً به خواص آنتی‌اکسیدانی آنها ارتباط داده شده‌اند [۲۳].

از میوه گیاه عناب ترکیب‌های تری‌ترپنوئیدی، فلاونوئیدی و آلکالوئیدی تخلیص شده است، همچنین نوعی ترکیب فنیل گلیکوزیدی با عنوان ژوژوفنوزید نیز از میوه عناب به دست می‌آید. با تخلیص هشت نوع فلاونوئید از میوه عناب بخشی از ویژگی‌های دارویی آن را به خواص آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات نسبت داده‌اند [۱۲].

در مطالعه‌ای موش‌های صحرایی عصاره اتانولی عناب را به صورت خوراکی از طریق گاواژ با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۸ هفته دریافت کردند و نتایج نشان داد که عصاره اتانولی عناب سطح فعالیت گلوکوتائون

۲. ضایعه دیده (آلزامیری): گروهی که تحت عمل جراحی استرئوتاکسیک الکترو تخریب به صورت دو طرفه درون NBM وارد شده و با عبور جریان تخریب گردید این گروه هیچگونه دارویی دریافت نکردند و تحت تست رفتاری تعادلی با استفاده از دستگاه روتارود قرار گرفتند (n=7).

۳. گروه درمان با دوز ۵۰۰ mg/kg عصاره: این گروه درمانی تحت عمل جراحی تخریب دو طرفه هسته NBM قرار گرفتند و عصاره با دوز ۵۰۰ میلی گرم را بلافاصله بعد از ایجاد تخریب به مدت ۲۰ روز به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند و تحت تست رفتاری تعادلی با استفاده از دستگاه روتارود قرار گرفتند (n=7).

۴. گروه درمان با دوز ۱۰۰۰ mg/kg عصاره: گروه درمانی که تحت عمل جراحی تخریب دو طرفه NBM قرار گرفتند و عصاره با دوز ۱۰۰۰ میلی گرم را بلافاصله بعد از ایجاد تخریب به مدت ۲۰ روز به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند و تحت تست رفتاری تعادلی با استفاده از دستگاه روتارود قرار گرفتند (n=7).

۵. گروه شم: گروهی که هیچگونه دارویی دریافت نکردند و تحت جراحی بدون تخریب هسته NBM قرار گرفتند و بعد از بهبود محل جراحی تحت تست رفتاری تعادلی با استفاده از دستگاه روتارود قرار گرفتند (n=7).

۶. گروه سالم با دوز ۵۰۰ mg/kg عصاره: این گروه فقط به مدت ۲۰ روز عصاره به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند و تحت تست رفتاری تعادلی با استفاده از دستگاه روتارود قرار گرفتند (n=7).

۷. گروه سالم با دوز ۱۰۰۰ mg/kg عصاره: این گروه فقط به مدت ۲۰ روز عصاره به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت کردند و تحت تست رفتاری تعادلی با استفاده از دستگاه روتارود قرار گرفتند (n=7).

دوزهای انتخابی بر اساس مطالعه (Pahuja M, 2011) بود [۱۹].

جراحی: حیوانات با تزریق داخل صفاقی ۱۱۰ mg/kg [۲۹] کتامین بیهوش شدند و موهای پشت سر آنها از ناحیه فاصله بین چشم‌ها تا گوش‌ها تراشیده شد و به دقت ضدعفونی شدند و در دستگاه استرئوتکس ثابت شده و به کمک کوتر جراحی یک برش طولی در پوست ناحیه پشت سر

پراکسیداز هیپوکامپ را به میزان چشمگیری افزایش می‌دهد که بخشی از دفاع مهم آنزیماتیک بر علیه استرس اکسیداتیو در سلولهاست [۲۸].

در بیماران آلزامیری توانایی حرکتی بیمار دستخوش آسیب شده و ممکن است تعادلش را از دست دهد و داروهای تقویت کننده استیل کولین برای درمان آلزامیر به کار می‌روند ولی همواره با عوارض زیادی همراه هستند. گیاه عناب با توجه به دارا بودن خاصیت بالای فعال کنندگی استیل کولین ترانسفرازی برای این مطالعه انتخاب شد و این مطالعه با هدف بررسی اثر درمانی عصاره هیدروالکی گیاه عناب بر تعادل حرکتی موش‌های صحرایی نر مدل آلزامیری و موش‌های صحرایی سالم با استفاده از دستگاه روتارود انجام شد.

مواد و روش‌ها

میوه عناب کوهپایه از عطاری تهیه شد و سپس در سایه خشکانده شد. بعد از خشک شدن همراه با هسته آسیاب شد و در محلولی که شامل ۵۰ درصد متانول و ۵۰ درصد آب بود قرا داده شد. محتوی گیاه بر روی گرداننده مغناطیسی با مگنت قرار گرفت و سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگه داشته شد و بعد از آن محتویات آن صاف گردید. محلول صاف شده را در دستگاه روتاری قرار دادیم و آب و الکل آن تبخیر شد تا عصاره خشک شد و آماده استفاده گردید [۱۹].

این مطالعه از نوع تجربی بوده و حیوانات با روش تصادفی ساده در گروه‌های مختلف آزمایشی قرار گرفتند. در این مطالعه از ۴۹ سر موش صحرایی بالغ نژاد ویستار با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم که از پژوهشکده علوم اعصاب دانشگاه شهید بهشتی خریداری شدند استفاده گردید. حیوانات حین و قبل از مطالعه در شرایط دوازده ساعته تاریکی-روشنایی در دمای ۲۲ درجه سلسیوس نگهداری شدند و با غذای استاندارد موش‌های صحرایی تهیه شده از انستیتو پاستور ایران تغذیه شدند. حیوانات به گروه‌های زیر تقسیم شدند:

۱. گروه کنترل: گروهی که تحت هیچگونه تزریق دارو یا جراحی قرار نگرفته و فقط آب مقطر دریافت کردند و تحت تست رفتاری تعادلی با استفاده از دستگاه روتارود قرار گرفتند (n=7).

فنی تام بر اساس متد شرافتی و همکاران اندازه گیری شد. جذب نمونه‌ها با منحنی استاندارد مقایسه و مقدار فنل تام هر عصاره بر حسب میلی گرم در هر گرم عصاره خشک محاسبه گردید [۲۷].

تعیین ترکیبات فلاونوئید: مقدار ترکیبات فلاونوئیدی

بر اساس متد اصغری و همکاران اندازه گیری شد. جذب نمونه‌ها با منحنی استاندارد مقایسه و مقدار فلاونوئید هر عصاره بر حسب میلی گرم در هر گرم عصاره خشک محاسبه گردید [۲].

بافت شناسی: برای بررسی صحت محل ضایعه در مغز،

بعد از اتمام آزمایشات رفتاری حیوانات با تزریق داخل صفاقی داروی بیهوشی به طور برگشت ناپذیری بیهوش شده و بعد از پرفیوز قلبی مغز حیوانات خارج شده و در فرمالین ۱۰ درصد فیکس شدند. برش‌های عرضی با ضخامت ۴۰ میکرومتر با استفاده از دستگاه میکروتوم تهیه شد. برش‌های مغزی با روش رنگ آمیزی همتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی شدند. از لام‌های تهیه شده عکس برداری شد و گستردگی محل ضایعه در آنها مشخص شد [۲۹].

آنالیز آماری: برای تحلیل آماری داده‌ها از آنالیز واریانس

یک‌طرفه (ANOVA) استفاده شد. در صورت وجود معنی‌داری از آزمون LSD جهت تعیین سطح تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها استفاده شد و $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که اختلاف معنی‌دار در مدت زمان ماندن بر روی گردونه دستگاه روتارود بین گروه آلزایمری (Alzh) و گروه کنترل وجود داشت ($p=0.025$). بین گروه کنترل و شم از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت اما بین گروه آلزایمری و شم از لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($p=0.01$). نتایج آزمون تعقیبی LSD نشان داد که اختلاف معنی‌دار آماری بین گروه آلزایمری و گروه آلزایمری که عصاره هیدروالکلی عناب را با دوز ۱۰۰۰ میلی گرم به مدت ۲۰ روز دریافت کردند (Alzh+ ZJ1000) عصاره هیدروالکلی عناب وجود داشت ($p=0.023$). عصاره هیدروالکلی عناب

آنها داده شد و بعد از کنار زدن بافت‌های پیوندی محل مورد نظر با آب اکسیژنه رفیق ضد عفونی و تمیز گردید تا درزهای مجسمه نمایان گردد. نقاط برگما و لامبدا بر اساس اطلس جراحی استرنوتاکسیک مغز موش صحرایی در یک سطح قرار داده شدند. مختصات استرنوتاکسیک به ترتیب برای NBM به صورت $AP = -1.3$ ، $ML = \pm 2.2$ ، $DV = -7$ است و با استفاده از دستگاه ایجاد کننده ضایعه با عبور جریان الکتریکی مستقیم 2mA به مدت 15 ثانیه به کمک الکتروود تخریب که از جنس فولاد زنگ نزن و قطر ۰/۸ میلی‌متر می‌باشد هسته NBM در هر دو نیمکره‌های مغزی به صورت الکتریکی تخریب گردید و بعد از طی شدن دوره بهبودی و ۲۰ روز تزریق عصاره حیوان‌ها تحت آموزش رفتاری تعادلی قرار گرفتند [۲۹].

آزمون هماهنگی تعادلی - حرکتی با دستگاه

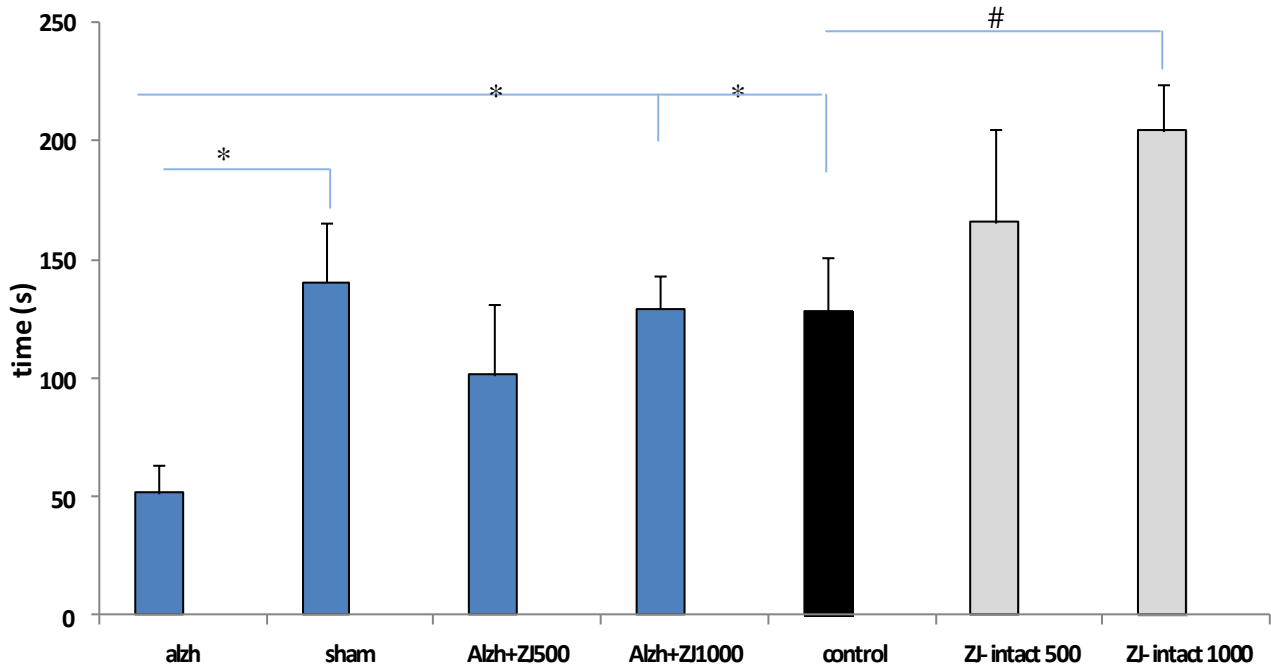
روتارود: قدرت حفظ تعادل و مقاومت حرکتی موش‌ها با استفاده از دستگاه روتارود مورد بررسی قرار گرفت. روتارود دستگاهی است که با استفاده از آن مقاومت حرکتی و حفظ تعادل حیوانات سنجیده می‌شود. این دستگاه شامل یک گردونه است که از ۰-۴۰ rpm سرعت چرخیدن آن می‌باشد. دستگاه روتارود تسمه‌ای دارد که با جا به جا کردن آن روی محل قرار گرفتن تسمه می‌توان سرعت چرخیدن گردونه را تنظیم کرد.

در ابتدا جهت آشنایی حیوان با دستگاه، بر روی میله غلتان روتارود قرار گرفتند و حرکت کردن بر روی آن به آنها آموزش داده شد. در این بررسی سرعت چرخیدن 10 rpm با شتاب 7rpm^2 در نظر گرفته شد که تقریباً ۱۱-۱۰ دور در دقیقه است. در هر یک از گروه‌های آزمایشی، ۱ ساعت بعد از تزریق عصاره، موش‌های صحرایی بر روی گردونه دستگاه روتارود قرار گرفتند. مدت زمانی را که حیوان می‌توانست تعادل خود را حفظ، و در مقابل حرکت گردونه مقاومت کند، به عنوان زمان مقاومت موش ثبت شد. حداکثر زمان مورد بررسی برای هر حیوان در این آزمون ۳۰۰ ثانیه در نظر گرفته شد [۲۱]. این آزمایش سه بار تکرار شد و میانگین آنها گرفته شد.

استاندارد سازی عصاره هیدروالکلی گیاه عناب:

برای استاندارد سازی عصاره گیاهی، فنول تام، فلاونوئید و ترکیبات فلاونول میوه گیاه عناب اندازه گیری شد.

تعیین ترکیبات فنلی و فلاونولی: مقدار ترکیبات



گروه‌های آزمایشی

شکل ۱- مقایسه‌ی میانگین آزمون حرکتی با استفاده از دستگاه روتارود بین گروه‌های آزمایشی. عصاره گیاه عناب باعث بهبود مقاومت حرکتی در گروه آلزایمری که دوز ۱۰۰۰ میلی‌گرم را دریافت می‌کردند در مقایسه با گروه آلزایمری شد ($P < 0.05$). عصاره عناب با دوز ۱۰۰۰ میلی‌گرم در گروه سالم باعث افزایش مقاومت حرکتی در مقایسه با گروه کنترل شد ($P < 0.05$). گروه آلزایمری، Alzh+ZJ500: گروه آلزایمری دریافت کننده عصاره با دوز ۵۰۰، Alzh+ZJ1000: گروه آلزایمری دریافت کننده عصاره با دوز ۱۰۰۰، ZJ intact 500: گروه سالم دریافت کننده عصاره با دوز ۵۰۰، ZJ intact1000: گروه سالم دریافت کننده عصاره با دوز ۱۰۰۰

جدول ۱- میزان ترکیبات موجود در عصاره.

	Total phenol	flavonoid	flavonol
Zizyphus jujube extract	48.8mg/g extract	10.89mg/g extract	10 mg/g extract

فلاونول عصاره گیاه بر حسب میلی‌گرم بر گرم خشک عصاره در جدول ۱ گزارش شده است.

بافت شناسی: بررسی بافت‌شناسی برای نمایش ضایعه الکتریکی دوطرفه NBM در قاعده‌ی مغز جلویی در موش‌های صحرایی در شکل ۲ نمایش داده شده است که تأییدی بر ایجاد مدل آلزایمری است.

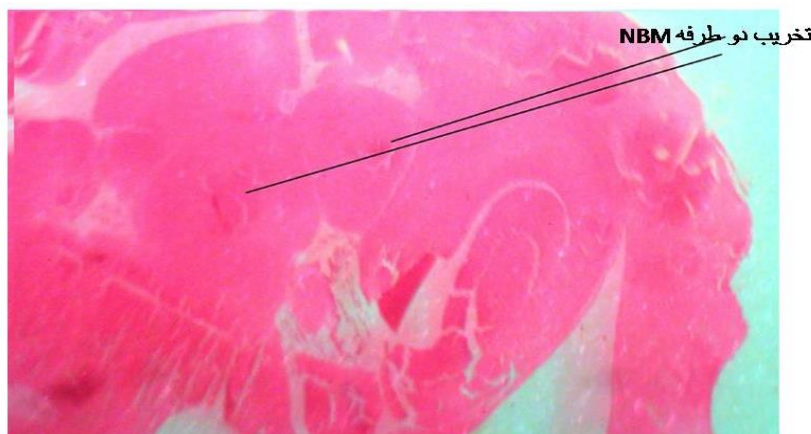
بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که تخریب دو طرفه هسته ماینرت در موش‌های صحرایی باعث کاهش معنی دار مقاومت حرکتی در مقایسه با گروه کنترل شد. عصاره

با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم افزایش معنی داری در گروه آلزایمری شده (Alzh+ZJ 500) بر بهبود مقاوت حرکتی و افزایش مدت زمان ماندن بر روی گردونه دستگاه روتارود ایجاد نکرد ($p=0.081$)، شکل ۱.

در این مطالعه تزریق عصاره هیدروالکی میوه گیاه عناب به مدت ۲۰ روز باعث بهبود حرکت و افزایش مدت زمان ماندن بر روی گردونه دستگاه روتارود در گروه‌های سالم در مقایسه با گروه کنترل شد که این افزایش در گروه سالمی که عصاره با دوز ۱۰۰۰ میلی‌گرم را دریافت می‌کرد (ZJ-intact1000) از لحاظ آماری معنی دار بود ($p=0.039$)، شکل ۱.

ترکیبات عصاره: میزان ترکیبات فنلی، فلاونوئید،



شکل ۲- بررسی بافت شناسی محل ضایعه تخریب دوطرفه هسته NBM

مطالعات نشان داده که بهبودی در تعادل حرکتی حتی بعد از ۴ هفته پس از ایجاد تخریب در NBM در مقایسه با گروه کنترل بر روی دستگاه ladder walking دیده نشده است [۱۰].

یک استراتژی برای بهبود علائم آلزایمر جبران غلظت استیل کولین نرمال در شکاف سیناپسی به منظور بهبود انتقال نورونی در پایانه‌های کولینرژیک در مغز است. فعال کننده‌های استیل کولین ترانسفراز میزان استیل کولین را به منظور افزایش سطح درونی استیل کولین در بهبود عملکرد شناختی خفیف تا متوسط آلزایمر افزایش می‌دهند [۱۸].

از آنجاییکه استیل کولین نقش مهمی در تنظیم رشد آکسونی و شکل‌پذیری سیناپس‌ها دارد نقص کولینرژیک در اختلال آلزایمر می‌تواند شکل‌پذیری قشری را همانطور که در قشر افراد پیر به تعویق می‌اندازد مختل نماید و اندازه ناحیه ضایعه دیده در هسته NBM به صورت دو طرفه ارتباط شدیدی با میزان استیل کولین آزاد شده در قشر مغز دارد [۳۰]. بیماران مبتلا به آلزایمر داروهای شیمیایی زیادی را برای بهبود علائم بیماری دریافت می‌کنند با این وجود هنگامیکه شخص این داروها را دریافت می‌کند خطر ایجاد نتایج عکس مثل گیج شدن، پریشانی، خواب آلودگی یا بی‌خوابی، نوسانات خلقی، مشکلات حافظه یا مشکلات گوارشی وجود دارد [۲۹] به دلیل چنین مشکلاتی برآن شدیم تا اثر گیاهان دارویی را به عنوان جایگزینی در درمان این بیماری بررسی کنیم.

مطالعات نشان داده‌اند که عصاره گیاه عناب بالاترین اثر فعال‌کنندگی را بر فعالیت استیل کولین ترانسفراز در محیط

هیدروالکلی گیاه عناب باعث بهبود مقاومت حرکتی در گروه آلزایمری که دوز ۱۰۰۰ میلی‌گرم را دریافت می‌کردند در مقایسه با گروه آلزایمری شد. عصاره گیاه عناب با دوز ۱۰۰۰ میلی‌گرم در گروه سالم باعث افزایش مقاومت حرکتی در مقایسه با گروه کنترل شد.

یکی از مشکلات در بیماران آلزایمری کنش پریشی یا آپراکسی است بدین معنی که بیمار توان انجام ماهرانه حرکات هدفمند و هماهنگ را بدون اینکه دچار فلج یا اختلال حسی یا حرکتی عضو یا اعضا باشد از دست می‌دهد [۱۵]. الگوهای تخریب هسته کولینرژیک NBM برای مطالعه نقش سیستم کولینرژیک قشری در عمل هوشیاری و درک به کار می‌رود و بر نقص‌های ادراکی ایجاد شده در بیماری آلزایمر دلالت دارد [۱۵]. قاعده مغز جلویی در تعدادی از عملکردهای مهم رفتاری مانند یادگیری و حافظه، توجه، تحریک، خواب، یکپارچگی حسی- حرکتی و فعالیت‌های حرکتی نقش دارد. قاعده مغز جلویی از لحاظ آناتومیکی پیچیده است و از جمعیت ناهمگن و درهمی از نورون‌ها تشکیل شده است. هسته ماینرت (NBM) که در قاعده مغز جلویی قرار گرفته اکثر سلولهای آن از نوع کولینرژیک هستند [۲۹] به دلیل اینکه انشعابات کولینرژیک از هسته ماینرت به قشر و سپتوم فرستاده می‌شود تخریب الکتریکی هسته NBM باعث مرگ سلولهای کولینرژیک در این هسته شده و باعث کاهش میزان استیل کولین موجود در قشر می‌شود [۱۷].

مطالعات قبلی نشان داده که تخریب در هسته NBM مغز موش‌های صحرائی باعث ایجاد نقص در فعالیت حرکتی و تعادل بر روی دستگاه ladder walking می‌شود. همچنین

است [۳]. کورتکس مغزی و هیپوکامپ برای کنترل عملکردهای شناختی و حرکتی با هم در ارتباطند و به نظر می‌رسد نسبت به استرس اکسیداتیو حساس باشند و نیاز به آنتی اکسیدانها داشته باشند. تصور می‌شود استرس اکسیداتیو یک عامل در کاهش عملکرد حرکتی و شناختی دیده شده در پیری است [۲۵].

اگرچه مطالعات بسیاری در این زمینه لازم است، بهبودی در مقاومت و مدت زمان ماندن بر روی گردونه دستگاه روتارود در گروههای تخریب هسته NBM که عصاره دریافت می‌کنند ممکن است علاوه بر خواص آنتی اکسیدانی، به دلیل خاصیت فعال کنندگی استیل کولین ترانسفراز گیاه عناب باشد که اثرات سودمندی را ایجاد می‌کند.

سپاسگزاری

در پایان بر خود لازم می‌دانیم از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد و کلیه عزیزانی که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند قدردانی نماییم.

in vitro دارد [۱۲] و ممکن است در اثر این خاصیت و افزایش سطح استیل کولین در پایانه‌های کولینرژیک در بهبود علائم آلزایمر و نقص حرکتی نقش داشته باشد.

فرضیه رادیکال‌های آزاد نشان می‌دهد که افزایش پراکسید لیپیدها و رادیکال‌های آزاد اکسیژن که توسط رادیکال‌های آزاد در غشاهای لیپیدی تولید می‌شوند باعث تخریب بخش گسترده‌ای از آنزیم‌های سلولی و به دنبال آن تشدید فرآیند نورودژنراتیو در بیماری آلزایمر می‌شود. از آنجاییکه رادیکال‌های آزاد بسیار واکنش پذیر هستند می‌توانند باعث آسیب به مولکولهای زیستی مهم مانند پروتئین‌ها، چربی‌ها، DNA، RNA، شده و منجر به مرگ سلول شوند. در طی فرآیند پیری مغز آسیب اکسیداتیو ایجاد می‌شود و همچنین در بیماری آلزایمر نیز آسیب اکسیداتیو تشدید می‌شود [۴].

با تخلیص هشت نوع فلاونوئید از میوه عناب بخشی از ویژگی‌های دارویی آن را به خواص آنتی اکسیدانی این ترکیبات نسبت داده‌اند [۱۲] در این مطالعه میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی نیز اندازه گیری شد. ارتباط این ترکیبات با خواص آنتی اکسیدانی در مطالعات مختلف نشان داده شده

study with *L. angustifolia* Mill. *Molecules* 15 (2010) 5971-87.

References

- [1] Asadi SY, Zamiri A, Ezzati S, Parsaei P, Rafieian M, Shirzad H, Effect of alcoholic extract of green tea (*Camellia sinensis*) on the healing process in surgical and burn wounds in rats. *J Birjand Uni Med Sci* 18 (2011) 1-9.
- [2] Asgary S, Moshtaghian SJ, Setorki M, et al, Hypoglycaemic and hypolipidemic effects of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) on alloxan-induced diabetic rats. *Afr J Pharm Pharmacol* 5(2001) 2620-6.
- [3] Baradaran A, Rafieian-kopaei M, Histopathological study of the combination of metformin and garlic juice for the attenuation of gentamicin renal toxicity in rats. *J Ren Inj Prev* 2 (2012) 15-21.
- [4] Blazekovic B, Vladimir-Knezevic S, Brantner A, Stefan MB, Evaluation of antioxidant potential of *Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel. 'Budrovka': a comparative study with *L. angustifolia* Mill. *Molecules* 15 (2010) 5971-87.
- [5] Briks J, Cholinesterase inhibitors for alzheimer disease. *J Pediatr Psychol* 1(2009)593-98.
- [6] Butt AE, Hodge GK, Simple and configural association learning in rats with bilateral quisqualic acid lesions of the nucleus basalis magnocellularis. *Behav Brain Res* 89 (1997) 71-85.
- [7] Choi J, Twamley E, Cognitive Rehabilitation Therapies for Alzheimers Disease: A Review of Methods to Improve Treatment Engagement and Self-Efficacy. *Psychol Rev* 23 (2013) 48-62.
- [8] Davoodian-Dehkordi A, Hojjati M, Yousefi M, Moshtaghi A, Rahimian R, Rafieian M, The effect of hydro-alcoholic extract of dried *Ficus carica* on spatial learning and memory in mice. *J Shahrekord Univ Med Sci* 12 (2011) 1-7.
- [9] Dean RL, Scozzafava J, Goas JA, Regan B, Beer B, Bartus RT, Age-related differences in behavior across

- the life span of the C57BL/6J mouse. *Exp Aging Res* 7 (1981) 427-51.
- [10] Elliott PJ, Garofalo L, Cuello AC, Limited neocortical devascularizing lesions causing deficits in memory retention and choline acetyltransferase activity effects of the monosialoganglioside GM1. *Neuroscience* 31 (1989) 63-76.
- [11] Greenamyre JT, Young AB, Excitatory amino acids and Alzheimer's disease. *NeurobiolAging* 10(1989)593-602.
- [12] Heo HJ, Park YJ, Suh YM, Choi SJ, Kim MJ, Cho HY, Chang YJ, Hong B, Kim HK, Kim E, Kim CJ, Kim BG, Shin DH, Effects of Oleamide on Choline Acetyltransferase and Cognitive Activities. *Biosci Biotechnol Biochem* 67 (2003) 1284-91.
- [13] Hyde C, Peters J, Bond M, et al, Evolution of the evidence on the effectiveness and cost-effectiveness of acetylcholinesterase inhibitors and memantine for Alzheimer's disease: systematic review and economic model. *Age Aging* 42 (2013) 14-20.
- [14] Jonsson T, Atwal JK, Steinberg S, Snaedal J, Jonsson PV, Bjornsson S, et al, A mutation in APP protects against Alzheimer disease and age-related cognitive decline. *Nature* 488 (2009) 96-9.
- [15] Koetter U, Barrett M, Lacher S, Abdelrahman A, Dolnick D, Interactions of Magnolia and Ziziphus extracts with selected central nervous system receptors. *J Ethnopharmacol* 124 (2009) 421-5.
- [16] Mallet PE, Beninger RJ, Flesher SN, Jhamandas K, Boegman RJ, Nucleus basalis lesions: Implication of basoamygdaloid cholinergic pathways in memory. *Brain Res Bull* 36 (1995) 51-6.
- [17] Markesbery WR, Oxidative Stress Hypothesis in Alzheimer's Disease. *Free Radic Biol Med* 23 (1997) 134-47.
- [18] McGaughy J, Decker MW, Sarter M, Enhancement of sustained attention performance by the nicotinic acetylcholine receptor agonist ABT-418 in intact but not basal forebrain-lesioned rats. *Psychopharmacology* 144 (1999) 175-82.
- [19] Oda Y, Choline acetyltransferase: The structure, distribution and pathologic changes in the central nervous system. *Pathol Int* 49(1999) 921-37.
- [20] Pahuja M, Mehla J, Reeta KH, Joshi S, Gupta YK, Hydroalcoholic extract of Ziziphus jujuba ameliorates seizures, oxidative stress, and cognitive impairment in experimental models of epilepsy in rats. *Epilepsy Behav* 21 (2011) 356-63.
- [21] Perry EK, Gibson PH, Blessed G, Perry RH, Tomlinson BE, Neurotransmitter enzyme abnormalities in senile dementia: Choline acetyltransferase and glutamic acid decarboxylase activities in necropsy brain tissue. *J Neurol Sci* 34 (1977) 247-65.
- [22] Quervain D, Dominique JF, Roozendaal B, McGaugh James L, Stress and glucocorticoids impair retrieval of long-term spatial memory. *Nature* 394 (1998) 787-90.
- [23] Rabiei Z, Bigdeli M, Mohagheghi F, Rasolian B, Relationship between dietary virgin Olive oil on brain Cholesterol, Cholesteryl ester and Triglyceride levels and Blood Brain Barrier (BBB) permeability in a rat stroke model. *Physiol Pharmacol* 16 (2012) 245-54.
- [24] Rabiei Z, Bigdeli MR, Rasoulia B, Ghassempour A, Mirzajani F, The neuroprotection effect of pretreatment with olive leaf extract on brain lipidomics in rat stroke model. *Phytomedicine* 19 (2012) 940-6.
- [25] Rafieian-Kopaei M, Nasri H, Serum lipoprotein (a) and atherosclerotic changes in hemodialysis patients. *J Ren Inj Prev* 2 (2013) 47-50.
- [26] Richardson JS, Free Radicals in the Genesis of Alzheimer's Disease. *Ann NY Acad Sci* 695(1993)73-6.
- [27] Sedighi M, Rafieian-kopaei M, Noori-Ahmadabadi M, Kelussia odoratissima Mozaffarian inhibits ileum contractions through voltage dependent and beta adrenergic Receptors. *Life Sci J* 9 (2012) 1033-8.
- [28] Sharafati-Chaleshtori R, Sharafati-Chaleshtori F, Rafieian M, Biological characterization of Iranian walnut (*Juglans regia*) leaves. *Turk JBiol* 35 (2011) 635-9.
- [29] Taatii M, Alirezaei M, Moshkatsadat MH, et al, Protective effects of *Ziziphus jujuba* fruit extract against ethanol-induced hippocampal oxidative stress and spatial memory impairment in rats. *J Med Plants Res* 5 (2011) 915-21.
- [30] Vale-Martnez A, Guillazo-Blanch G, Mar-Nicolovius M, Nadal R, Arvalo-Gara R, Morgado-Bernal I, Electrolytic and ibotenic acid lesions of the nucleus basalis magnocellularis interrupt long-term retention, but not acquisition of two-way active avoidance, in rats. *Exp Brain Res* 142 (2002) 52-66.
- [31] Winkler J, Thal LJ, Gage FH, Fisher LG, Cholinergic strategies for Alzheimer disease. *J Mol Med* 76 (1998) 555-67.