Physiology and Pharmacology, 18 (4), 477-489

Winter 2015 [Article in Persian]

Physiology and Pharmacology

Effect of olibanum on a rat model of Alzheimer's disease induced by intracerebroventricular injection of streptozotocin

Seyyed Rasoul Zaker, Siamak Beheshti*, Rezvan Aghaie, Maryam Noorbakhshnia

Division of Animal Sciences, Dept. of Biology, Faculty of Sciences, University of Isfahan, Isfahan, Iran

Received: 16 Aug 2014 **Accepted: 17 Oct 2014**

Abstract

Introduction: Olibanum improves memory in different models of learning. However, the effect of olibanum on models of Alzheimer's disease has been less studied. In the present study, the effect of olibanum on memory in normal rats and in a rat model of Alzheimer disease induced by intracerebroventricular injections of streptozotocin was evaluated.

Methods: Rats received an aqueous extract of olibanum (50, 100 and 300 mg/kg) via gavage, acutely 30 minutes before the test and chronically for 21 consecutive days before assessment of memory racall. In two other groups of animals, two guide cannulas were inserted into the lateral ventricles under stereotaxic surgery. One group received bilateral injections of streptozotocin (1.5 mg/kg/2 µl/side) in the first and third days of surgery. The other group received artificial cerebrospinal fluid. Fourteen days after surgery, learning was evaluated. Two other groups of animals received olibanum (50 mg/kg) or its solvent, for 21 days beginning from one week before injections of streptozotocin.

Results: Acute administration of olibanum did not affect learning parameters, but chronic administration of it (50 mg/kg) improved memory retrieval. Streptozotocin increased number of necessary stimulations for induction of short term memory, but decreased step through latency, significantly. In animals which received streptozotocin, olibanum increased step through latency, significantly.

Conclusion: Olibanum reduces the risk of Alzheimer's disease induced by streptozotocin. Further studies with emphasis on active constituents of olibanum may result in development of drugs capable of decreasing probability of Alzheimer's disease occurrence.

Key words: Olibanum, Streptozotocin, Alzheimer's disease

* Corresponding author e-mails: siamak.beheshti@yahoo.com
s.beheshti@sci.ui.ac.ir

Available online at: www.phypha.ir/ppj

فیزیولوژی و فارماکولوژی ۱۸ (٤)، ٤٧٧ – ٤٨٩
زمستان ۱۳۹۳

فیزیولوژی و فارماکولوژی

اثر کندر روی مدل بیماری آلزایمر ناشی از تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین

سید رسول ذاکر، سیامک بهشتی*، رضوان آقائی، مریم نوربخش نیا
بخش علوم جانوری، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان، اصفهان

دریافت: ۲۵ مرداد ۹۳ پذیرش: ۲۵ مهر ۹۳

چکیده

مقدمه: کندر باعث بهبود حافظه در مدل‌های مختلف یادگیری می‌شود. بااین‌حال تأثیر کندر در مدل‌های بیماری آلزایمر کمتر مطالعه شده است. در این مطالعه اثر کندر، بر حافظه موش‌های صحرایی سالم و همچنین مدل بیماری آلزایمر ناشی از استرپتوزوتوسین بررسی شد.

روش ها: موش‌های صحرائی، عصاره آبی کندر را به‌صورت حاد یک‌بار، ۳۰ دقیقه پیش از آزمون (50, 100, 300 mg/kg) و به‌صورت مزمن به مدت ۲۱ روز، (50, 100 mg/kg) از طریق گاواژ دریافت کردند و میزان بازخوانی حافظه بررسی شد. در دو گروه دیگر از حیوانات، تحت جراحی استرئوتاکس دو کانول تزریق داخل بطن‌های طرفی کار گذاشته شد. به یک گروه استرپتوزوتوسین (1.5 mg/kg/2µl/side) به‌صورت دوطرفه در روز اول و سوم جراحی تزریق شد. گروه دیگر مایع مغزی نخاعی مصنوعی دریافت نمود. ۱۴ روز پس از جراحی یادگیری بررسی شد. دو گروه دیگر، از یک هفته پیش از تزریق استرپتوزوتوسین، کندر (50 mg/kg) یا حلال آن را به مدت ۲۱ روزدریافت کردند.

یافته ها: تجویز حاد عصاره کندر اثر معنی‌داری بر پارامترهای یادگیری نداشت، اما تجویز مزمن دوز 50 mg/kg از آن حافظه را بهبود بخشید. استرپتوزوتوسین باعث افزایش معنی‌دار تعداد تحریکات لازم برای ایجاد یادگیری کوتاه‌مدت و کاهش معنی‌دار مدت‌زمان تأخیری برای ورود به اتاق تاریک شد. کندر به‌طور معنی‌داری باعث افزایش مدت‌زمان تأخیری برای ورود به اتاق تاریک در حیوانات دریافت‌کننده استرپتوزوتوسین شد.

نتیجه گیری: کندر خطر ابتلا به آلزایمر ناشی از استرپتوزوتوسین را کاهش می دهد. مطالعات بیشتر با تأکید بر ترکیبات مؤثر کندر می‌تواند منجر به ساخت داروهای کاهش دهنده احتمال ابتلا به بیماری آلزایمر شود.

واژه‌های کلیدی: کندر، استرپتوزوتوسین، بیماری آلزایمر

مقدمه

یادگیری، توانائی تغییر رفتار در نتیجه تجربیات است و حافظه برای حفظ تجربیات یاد گرفته‌شده ضروری است. اهمیت این قابلیت در هنگام بروز اختلالات همراه با نقص حافظه بیش‌ازپیش مشخص می‌گردد. آلزایمر یک بیماری تحلیل برنده عصبی است که منجر به نقصان فراوان حافظه می‌شود [۶]. این بیماری بر اساس علت، سن شروع علائم، تغییرات بیوشیمیایی و ژنتیکی به دو نوع ژنتیکی و تک‌گیر[1] طبقه‌بندی می‌شود. نوع ژنتیکی زودرس و نادر بوده اما نوع تک‌گیر شروع دیررس دارد و اغلب موارد بیماری را شامل می‌شود. [۳۲]. داروهای مورد استفاده در درمان آلزایمر

* نویسندهٔ مسئول مکاتبات siamak.beheshti@yahoo.com
s.beheshti@sci.ui.ac.ir
وبگاه مجله: www.phypha.ir/ppj

1. Sporadic

شامل مهارکننده های استیل کولین استراز چون دنزپیل، گالانتامین و ریواستیگمین و نیز داروی ممانتین که مرگ نورونی را به تأخیر می اندازد، موجب تخفیف علائم بیماری می شوند [۲۹، ۳۸، ۴۰]. با این وجود این داروها دارای عوارض جانبی چون اسهال، تهوع، استفراغ و گیجی و خواب‌آلودگی هستند. ازاین‌رو امروزه در درمان دارویی آلزایمر استفاده از منابع دارویی گیاهی بیش‌ازپیش موردتوجه قرارگرفته است.

کندر، صمغ رزینی به‌دست‌آمده از گیاهان جنس بوسولیا است. گونه‌های مختلف جنس بوسولیا و در رأس آن‌ها گیاه *Boswellia carteri* از منابع اصلی تولیدکننده کندر در دنیا شناخته‌شده‌اند [۱۲]. ترکیب شیمیایی کندر به نوع گونه گیاهی منشاء آن و همچنین فصل و زمان جمع آوری محصول بستگی دارد اما به طور کلی شامل ۳۵-۲۵ درصد صمغ غیر محلول در الکل، ۷۰-۶۰ درصد رزین محلول در الکل و مابقی نوعی اسانس است [۲۵]. از جمله ترکیبات کندر می توان به اینسنسول[1]، اسیدهای بوسولیک[2]، پینن[3]، سیمن[4]، کارن[5]، سابینن[6] و لیمونن[7] اشاره کرد [۷]. در احادیث و روایات متعدد از پیامبر گرامی اسلام و ائمه معصومین و نیز در بسیاری از منابع طب سنتی اسلام و ایران به تأثیر کندر در بهبود حافظه اشاره‌شده است. [۵]. لذا در سالهای اخیر برای بررسی این نظرات مطالعات علمی تجربی فراوانی بخصوص توسط دانشمندان ایرانی آگاه از روایات اسلامی و طب سنتی صورت گرفته است که همگی نشان دهنده تاثیر کندر بر بهبود حافظه در مدلهای مختلف یادگیری می باشند [۵، ۸، ۱۰-۱۴، ۲۰، ۲۶، ۴۳].

تحقیقات نشان داده‌اند در نوع تک‌گیر بیماری آلزایمر، علاوه بر اختلالات یادگیری و حافظه، آسیب شدیدی نیز به‌صورت پیش‌رونده در متابولیسم گلوکز و انرژی مغز به وجود می‌آید [۱۹]. مشخص‌شده تزریق استرپتوزوتوسین، ماده‌ای که جهت القای دیابت تیپ یک در حیوانات آزمایشگاهی استفاده می‌شود با دوزهای بسیار کمتر از دوز ایجادکننده دیابت، به داخل بطن‌های مغزی در موش صحرایی بر یادگیری و حافظه و همچنین بر فرآیندهای متابولیکی در مغز این حیوانات اثراتی مشابه با بیماری آلزایمر نوع تک‌گیر دارد و مدل مناسبی برای مطالعه این بیماری است [۱۷، ۱۸]. استرپتوزوتوسین از طریق انتقال‌دهنده‌های نوع ۲ گلوکز[8] وارد سلول شده و از طریق آلکیلاسیون DNA فعالیت پلی ریبوزیلاسیون ADP را هدف قرار می‌دهد و درنتیجه منجر به کاهش NAD^+ و ATP می‌شود [۳۹]. انتقال‌دهنده‌های نوع ۲ گلوکز، در سراسر مغز به‌خصوص در مناطق لیمبیک و هسته‌های مرتبط به آن توزیع شده است و در مجاورت پایانه‌های عصبی، دندریت‌ها یا انشعابات دندریتی که در ارتباطات بین سیناپسی نورون‌ها نقش دارند، قرار دارد.

تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین با مهار گیرنده‌های انسولین مغز از طریق کاهش مصرف گلوکز، کاهش فعالیت آنزیم‌های گلیکولیتیک در مغز، کاهش تشکیل انرژی، کاهش فعالیت آنزیم استیل کولین ترانسفراز و آسیب نورون‌های آوران کولینرژیکی و همچنین کاهش فعالیت کاتکول آمینرژیک موجب پیدایش اختلالاتی در حافظه می‌گردد [۱۹، ۳۶]. علاوه بر این از طریق ایجاد استرس اکسیداتیو موجب تغییر فعالیت میکروگلیاها و آسیب انتخابی به میلین و آکسونهای هیپوکمپ و فورنیکس می‌شود. همچنین با از بین بردن سلول‌های اپاندیمی بطن موجب بزرگ شدن بطن‌ها به میزان زیادی می‌شود [۳۷]. باوجود مطالعاتی که نشان می‌دهند کندر در بهبود میزان یادگیری و حافظه مؤثر است، تنها در یک مطالعه اثر کندر در مدل آزمایشگاهی ایجاد آلزایمر توسط کلرید آلومینیوم بررسی‌شده است [۴۳]. ازاین‌رو در این مطالعه اثر عصاره آبی کندر بر روند ایجاد نقص حافظه ناشی از تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین بررسی شد.

مواد و روش ها

در این مطالعه از موش‌های صحرائی نر نژاد ویستار که در

1 . Incensole
2 . Boswellic acid
3 . Pinene
4 . Cymene
5. Carene
6. Sabinene
7. Limonene

1. Glucose Transporter 2 (GLUT 2)

هنگام آزمایش در محدوده وزنی ۲۳۰–۲۸۰ گرم بودند استفاده شد. حیوانات به‌صورت ۴ تایی در قفسهای استاندارد (تجهیز گستر امید ایرانیان، ۱۳۹۲) نگهداری شده و آب و غذا (شرکت به پرور) به‌صورت نامحدود در اختیارشان قرار داشت. دمای اتاق نگهداری حیوانات در ۲۴ درجه سانتی‌گراد تنظیم‌شده و چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲ ساعته (شروع دوره روشنایی از ۷ صبح) اعمال گردید. جنبه‌های اخلاقی کار با حیوانات به‌وسیله کمیته تحصیلات تکمیلی گروه زیست‌شناسی دانشگاه اصفهان مورد تائید قرار گرفت.

کندر از گونه *Boswellia carteri* از شرکت داروسازی رها (اصفهان) به‌صورت هدیه دریافت شد. برای تهیه عصاره آبی کندر مقدار مشخصی از کندر به‌وسیله هاون چینی پودر گردید. پس از پودر کردن متناسب با دوز مدنظر، کندر وزن شده و در آب مقطر به‌عنوان حلال حل گردید. محلول آماده‌شده ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شد. سپس محلول حاصل روی بن ماری در ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت حرارت داده شد تا مواد محلول در آب آن کاملاً حل شوند. درنهایت محلول توسط گاز استریل صاف و یکدست شده و جهت آزمایش روی حیوان مورداستفاده قرار گرفت. در این مرحله برای تعیین حجم موردنظر برای تزریق خوراکی به هر حیوان از فرمول زیر استفاده و بعد از به دست آوردن حجم تزریق با استفاده از سوزن گاواژ تزریق انجام شد.

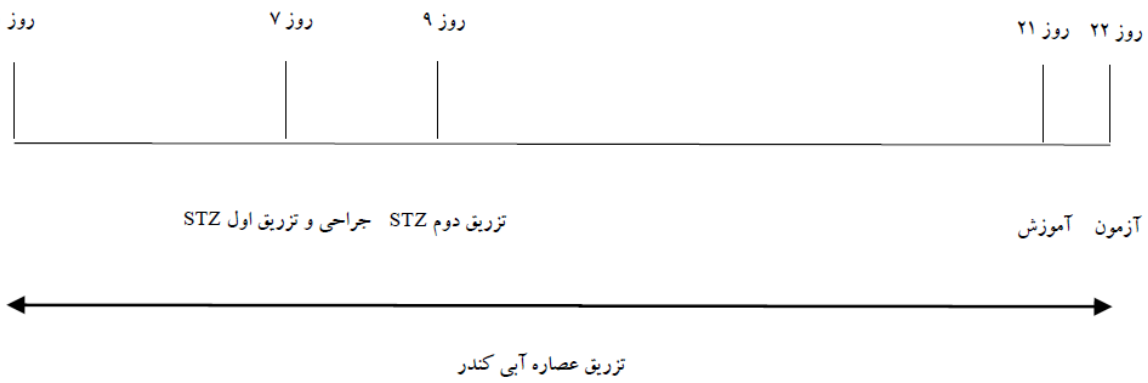
$$\text{Volume } (ml) = \frac{\text{Dose } \left(\frac{mg}{kg}\right) \times \text{ Weight}(kg)}{\text{Concentration } (\frac{mg}{ml})}$$

عصاره‌های آبی کندر برای هر مرحله از کار به‌صورت تازه و روزانه آماده شد. بعد از انجام تزریق حیوان به‌آرامی به قفس برگردانده شد.

جهت تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین (سیگما، آمریکا)، تحت جراحی استرئوتاکس دو عدد کانول راهنما در بطن‌های طرفی مغز حیوانات کار گذاشته شد. به این منظور ابتدا حیوان توسط تزریق داخل صفاقی مخلوطی از کتامین(100 mg/kg) و زایلازین (10 mg/kg) بیهوش شد. سپس موهای سر تراشیده شده و حیوان در دستگاه استرئوتاکس قرار داده شد. ناحیه تراشیده پوست سر تمیز شده و با الکل و بتادین ضدعفونی گردید. یک شکاف جلویی عقبی به طول تقریبی ۲/۵ سانتی‌متر در خط میانی سر (از دو طرف چشم تا پشت گوش) ایجاد شد. بافت پیوندی زیرپوست کنار زده شد و ناحیه موردنظر کاملاً تمیز گردید تا سطح جمجمه ظاهر شود. به‌وسیله مته دستی کوچک (میکرو موتور) دو سوراخ (ناقص) ایجاد شد و دو عدد پیچ عینک استریل به جمجمه متصل شد به‌نحوی‌که وارد بافت مغز نشود. مجموعه کانول راهنما و کانول تزریق در نگه‌دارنده دستگاه قرار داده‌شده و از قائم بودن آن اطمینان حاصل شد. سپس بر اساس مختصات اطلس مغز موش صحرایی پاکسینوس و واتسون [۳۱] (از نقطه برگما ۰/۹ میلی‌متر به سمت عقب، ۱/۴ میلی‌متر به طرفین و ۳/۵ میلی‌متر به سمت پائین از سطح سخت‌شامه) در بطن جانبی قرار گرفت. مقداری پودر داکسی‌سایکلین در سطح جمجمه اطراف کانول ریخته شد تا از عفونت احتمالی جلوگیری شود. سپس سیمان دندانپزشکی به اطراف کانول و یک یا هردوی پیچ‌ها اضافه گردید تا کانول ثابت شود. به سیمان فرصت داده شد تا به‌طور کامل خشک شود. دومین کانول (مجموعه کانول راهنما و تزریق) در نگه‌دارنده دستگاه قرار داده شد و مراحل قبل مطابق کانول اول تکرار گردید. پیچ‌ها و سطح بزرگی از کانول‌ها در تمام سطح جمجمه با سیمان پوشانده شد. پوست سر بخیه زده شد. پس از آن‌که سیمان کاملاً خشک شد کانول از نگه‌دارنده جدا شده و استرپتوزوتوسین (۱/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم با حجم ۲ میکرو لیتر در هر طرف) به‌صورت دوطرفه با سرعت نیم میکرو لیتر در دقیقه در بطن جانبی تزریق شد. پس از تزریق در هر طرف یک دقیقه اضافی نیز کانول تزریق در محل باقی ماند تا دارو به‌خوبی جذب شود و سپس به‌آرامی خارج شد و یک سرپوش استریل[1] داخل هر کانول قرار داده شد تا از آلودگی و گرفتگی احتمالی کانول جلوگیری شود. سرپوش با روغن معدنی آغشته شد تا از ورود خون و لخته شدن و گرفتگی متعاقب کانول جلوگیری شود. تزریق استرپتوزوتوسین ۴۸ ساعت بعد مجدد تکرار شد.

چهارده روز پس از اولین تزریق استرپتوزوتوسین میزان حافظه حیوانات ارزیابی شد. برای ارزیابی حافظه از روش

1. Stylet



شکل ۱- دیاگرام نشان‌دهنده چگونگی تیمار حیوانات با عصاره آبی کندر (50 mg/kg) در اثنای اکتساب آلزایمر ناشی از تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین (1.5 mg/kg).

یادگیری اجتنابی غیرفعال استفاده شد [۳۴]. روش اجتنابی غیرفعال در دو روز متوالی انجام می‌گیرد. روز اول یا روز آموزش، روز دوم یا روز آزمون. دستگاه مورداستفاده (تجهیز گستر امید ایرانیان، ۱۳۹۲) دارای دو بخش مجزا به رنگ‌های سفید و سیاه به ابعاد ۳۰×۲۵×۲۵ سانتی‌متر است که توسط گیوتینی به ابعاد ۲۵×۸ سانتی‌متر از یکدیگر جدا می‌گردند. کف هر دو بخش دارای میله‌های فلزی از جنس فولاد زنگ نزن به قطر ۳ میلی‌متر بود که به فاصله یک سانتی‌متر از یکدیگر قرار داشتند. تمامی آزمایش‌ها در اتاقی کاملاً آرام و در شرایط استاندارد انجام گرفتند. هر حیوان در بخش سفید دستگاه قرار داده می‌شد، پس از گذشت ۵ ثانیه در کشویی باز و بلافاصله بعد از ورود حیوان به بخش سیاه در کشویی بسته می‌گردید و بعد از ۲۰ ثانیه حیوان به آرامی به قفس برگردانده می‌شد[1]. پس از گذشت ۳۰ دقیقه حیوان دوباره به بخش سفید منتقل شده و ۵ ثانیه بعد در کشویی باز می‌شد. با ورود حیوان به بخش سیاه، در کشویی بسته شده و حیوان تحریک الکتریکی با شدت ۰/۳ میلی‌آمپر و مدت ۱ ثانیه دریافت می‌کرد. ۲۰ ثانیه بعد حیوان به قفس منتقل می‌گردید[2]. پس از گذشت ۲ دقیقه مرحله دوم آموزش تکرار شده و میزان تأخیر ورود حیوان به بخش سیاه دستگاه ثبت می‌شد (ارزیابی حافظه کوتاه‌مدت). زمان یادگیری موفق ۱۲۰ ثانیه در نظر گرفته شد. حداکثر آموزش برای هر موش جهت مشخص کردن میزان عملکرد دستگاه و موش‌ها سه بار در نظر گرفته شد. ۲۴ ساعت بعد هر حیوان در بخش سفید قرار داده‌شده، بعد از ۲۰ ثانیه در کشویی باز و زمان تأخیر حیوان در ورود به بخش سیاه به‌عنوان معیار حافظه در نظر گرفته شد. بیشترین مقدار تأخیر برای ورود به بخش سیاه[3]، ۶۰۰ ثانیه در نظر گرفته شد.

در مجموع ۸۸ موش صحرایی نر در ۱۱ گروه مختلف (هر گروه ۸ سر) قرار گرفته و برای آزمایش‌ها استفاده شدند. هفت گروه از حیوانات، عصاره آبی کندر (50, 100, 300 mg/kg) را به‌صورت حاد یک‌بار، ۳۰ دقیقه پیش از آزمون و به‌صورت مزمن به مدت ۲۱ روز، روزانه (50, 100 mg/kg) از طریق گاواژ دریافت کردند و میزان بازخوانی حافظه در روز آزمون بررسی شد. گروه‌های کنترل نیز آب مقطر به‌عنوان حلال عصاره دریافت کردند. در دو گروه دیگر از حیوانات، تحت جراحی استرئوتاکس دو کانول تزریق داخل بطن‌های طرفی کار گذاشته شد. به یک گروه استرپتوزوتوسین (1.5 mg/kg/2µl) به‌صورت دوطرفه در روز اول و سوم جراحی تزریق شد. گروه دیگر مایع مغزی نخاعی مصنوعی (124mM NaCl, 4.4mM KCl, 2mM $CaCl_2$, 2mM $MgCl_2$, 1.25mM KH_2PO_4, 25mM $NaHCO_3$, 10mM Glucose با pH ۷/۲) به‌عنوان حلال استرپتوزوتوسین دریافت نمود. برای حل کردن استرپتوزوتوسین، مایع مغزی نخاعی به‌صورت سرد و درست

1. habituation training
2. acquisition training

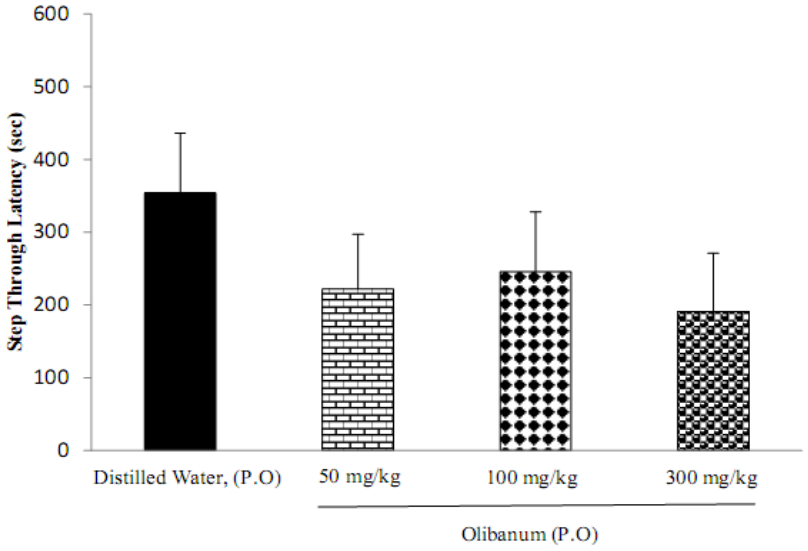
3. cut off time

قبل از تزریقات اضافه شد. ۱۴ روز پس از جراحی یادگیری بررسی شد. دو گروه دیگر از حیوانات از یک هفته پیش از تزریق استرپتوزوتوسین تا ۱۴ روز پس از اولین تزریق استرپتوزوتوسین به مدت ۲۱ روز کندر (50 mg/kg) یا آب مقطر را دریافت کردند (شکل ۱).

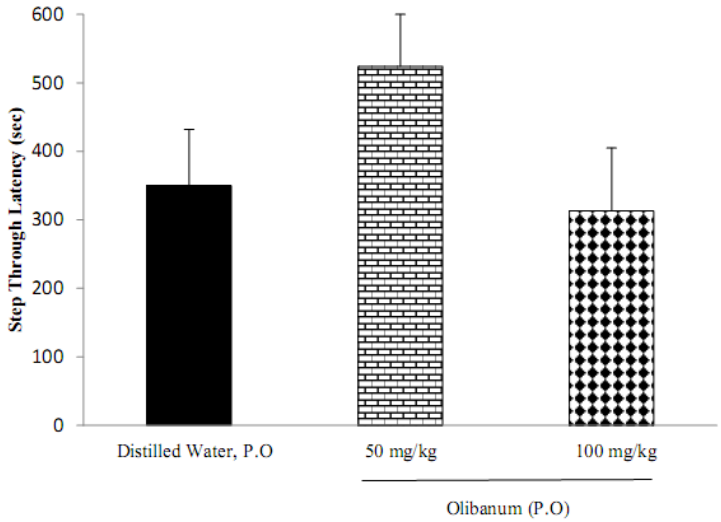
پس از پایان آزمایش‌ها حیوانات ابتدا توسط اتر به‌طور عمیق بیهوش شده سپس مغز آن‌ها خارج گردید و در فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد. محل کارگذاری کانول به‌دقت بررسی شد. داده‌های حیواناتی که کانول‌های تزریق خارج از بطن‌های جانبی قرار داشت برای آنالیز داده‌ها استفاده نشد. داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده‌اند. آنالیز داده‌ها توسط آزمون‌های پارامتریک آنالیز واریانس یک‌طرفه یا آزمون t غیر زوج انجام شد. تفاوت میانگین‌ها در سطح $P<0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

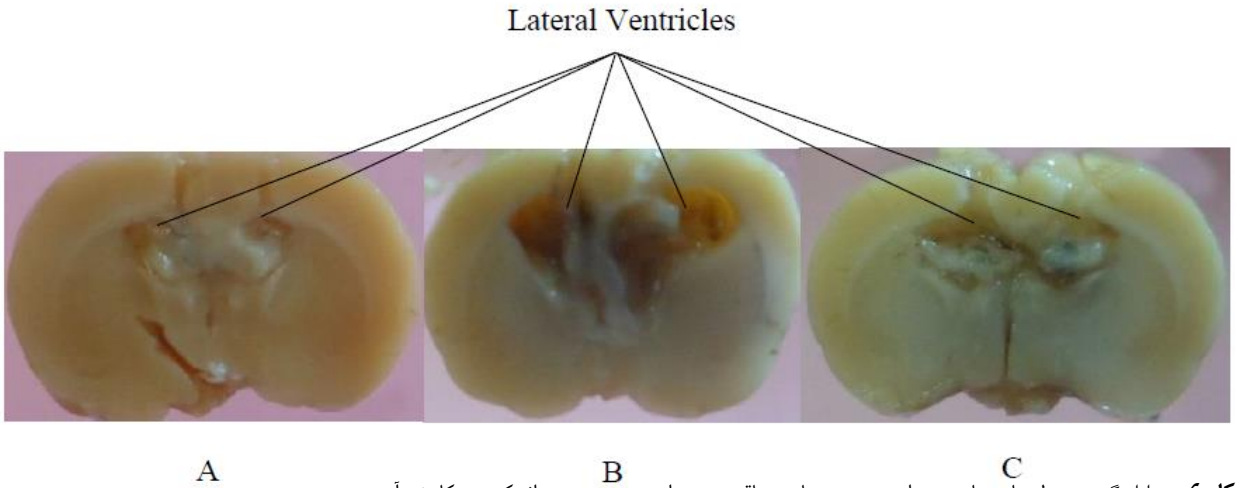
در روش یادگیری اجتنابی غیر فعال، کاهش مدت زمان



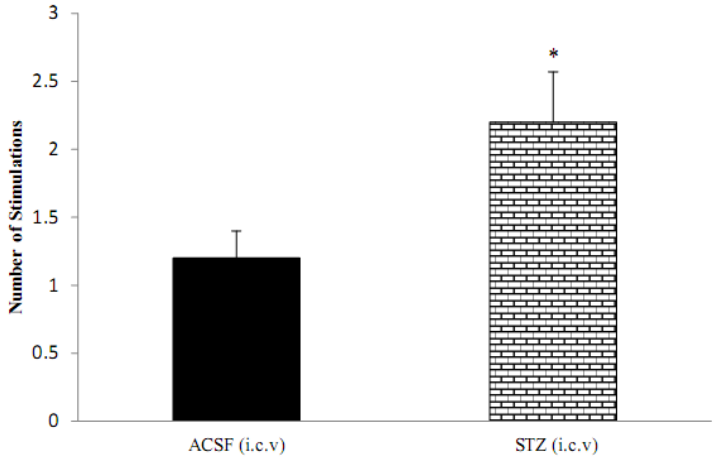
شکل ۲- اثر تزریق حاد عصاره آبی کندر (50, 100, 300 mg/kg)، ۳۰ دقیقه پیش از آزمون بر مدت‌زمان تأخیری برای ورود به اتاق تاریک. آزمون آماری استفاده شده آنالیز واریانس یک‌طرفه است.



شکل ۳- اثر تزریق مزمن عصاره آبی کندر (50, 100 mg/kg) به مدت ۲۱ روز، بر مدت‌زمان تأخیری برای ورود به اتاق تاریک. آزمون آماری استفاده‌شده آنالیز واریانس یک‌طرفه است.



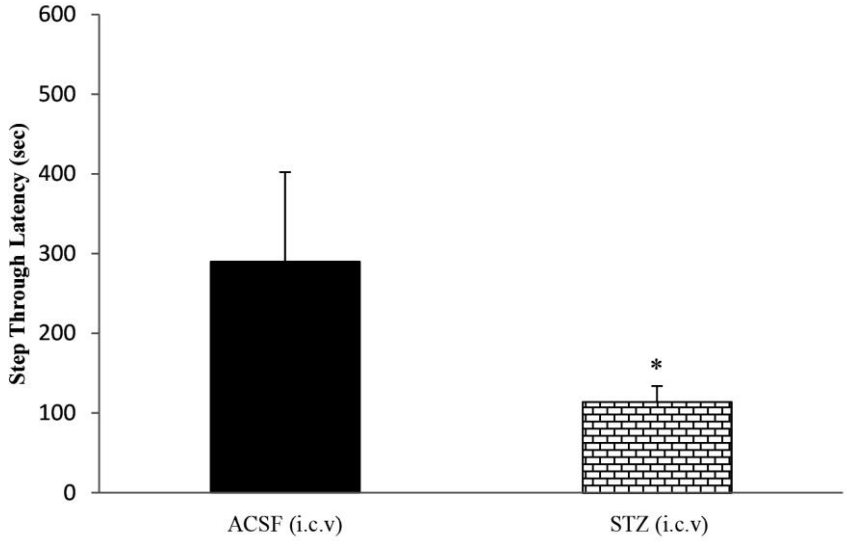
شکل ٤- تحلیل گسترده بطن‌های جانبی و نواحی مغزی مجاور متعاقب تزریق استرپتوزوتوسین و اثر کندر بر کاهش آن.
A) نمونه دریافت‌کننده ACSF B) نمونه دریافت‌کننده استرپتوزوتوسین C) نمونه دریافت‌کننده کندر به‌علاوه استرپتوزوتوسین.



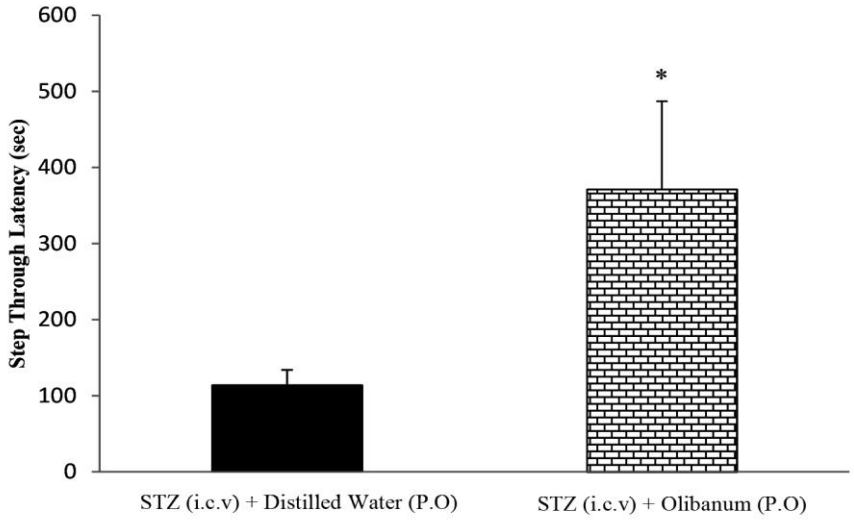
شکل ٥- اثر تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین (1.5 mg/kg/2µl, i.c.v) بر تعداد شوک‌های الکتریکی لازم برای ایجاد یادگیری کوتاه‌مدت در روز آموزش. آزمون آماری استفاده‌شده آزمون t غیر زوج است. (*: $P<0.05$).

تاخیری برای ورود به اتاق تاریک نشان دهنده تخریب حافظه و افزایش آن نشان دهنده بهبود حافظه است. تزریق عصاره آبی کندر (50, 100, 300 mg/kg) از طریق گاواژ به موش‌های صحرایی ۳۰ دقیقه پیش از آزمون، تأثیری بر مدت‌زمان تأخیری برای ورود به اتاق تاریک در مقایسه با گروه کنترل نداشت (شکل ۲). اما تزریق مزمن کندر (50 mg/kg) به مدت ۲۱ روز باعث افزایش مدت‌زمان تأخیری برای ورود به اتاق تاریک به میزان ۴۹ ٪ در مقایسه با گروه کنترل گردید، هر چند این تاثیر از نظر آماری معنی دار نبود (شکل ۳). تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین (1.5 mg/kg/2µl/side) باعث تحلیل گسترده بطن‌های جانبی و نواحی مغزی مجاور آن‌ها شده (شکل ۴) و به‌طور معنی‌داری باعث افزایش تعداد تحریکات الکتریکی لازم برای ایجاد یادگیری کوتاه‌مدت در حیوانات شد (شکل ۵). همچنین به‌طور معنی‌داری مدت‌زمان تأخیری برای ورود به اتاق تاریک را در روز آزمون کاهش داد (شکل ۶).

تزریق کندر (50 mg/kg) از یک هفته پیش از تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین (1.5 mg/kg) تا دو هفته پس از اولین تزریق استرپتوزوتوسین (درمجموع به مدت ۲۱ روز) باعث افزایش معنی‌دار مدت‌زمان تأخیری برای ورود به اتاق تاریک در روز آزمون در مقایسه با گروه دریافت‌کننده استرپتوزوتوسین (1.5 mg/kg) به‌تنهایی شد (شکل ۷).



شکل ٦- اثر تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین (1.5 mg/kg/2µl/side, i.c.v) بر مدت زمان تأخیری برای ورود به بخش تاریک. آزمون آماری استفاده‌شده آزمون t غیر زوج است. (*: P<0.05).



شکل ۷- اثر تزریق مزمن عصاره آبی کندر (50 mg/kg; P.O) از یک هفته پیش از تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین (1.5 mg/kg; i.c.v) تا روز آزمون (در کل ۲۱ روز) بر مدت زمان تاخیری برای ورود به اتاق تاریک. آزمون آماری استفاده‌شده آزمون t غیر زوج است. (*: P<0.05).

همچنین مقاطع بافتی نشان داد که کندر موجب کاهش تأثیر استرپتوزوتوسین در تحلیل بطن‌های جانبی و نواحی مغزی مجاور آن می‌شود (شکل ۴).

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تجویز عصاره آبی کندر به‌صورت مزمن و نه حاد موجب بهبود بازخوانی حافظه در موش‌های صحرایی سالم در مدل یادگیری اجتنابی غیرفعال می‌گردد. موافق با این نتایج طی دهه گذشته مطالعات متعدد نشان داده‌اند که کندر موجب بهبود کارکردهای شناختی در مدل‌های مختلف یادگیری و حافظه می‌شود. کندر با یک بار تجویز در روش ماز آبی موریس باعث افزایش توانایی حافظه موش‌های صحرایی هم در حافظه سالم و هم در حافظه تخریب‌شده با هیوسین گردید [۱۵]. همچنین تجویز حاد عصاره کندر موجب بهبود حافظه فضایی موش‌های بالغ در روش‌های ماز آبی موریس و ماز شعاعی شد [۸]. برخلاف این مطالعات در این تحقیق تجویز حاد عصاره آبی کندر اثری بر

پارامترهـای یـادگیری در روش یـادگیری اجتنـابی غیرفعـال نداشت. این تفاوت ممکن است بـه دلیـل تفـاوت در ماهیـت مدل‌های یادگیری، نوع عصاره استفاده‌شـده و نحـوه تزریـق باشد. همچنین ممکن است مدت زمـان مورداسـتفاده پـس از تزریق عصاره کندر نیز بر اثرات مشاهده‌شده مؤثر باشد. در این مطالعه ۳۰ دقیقه پـس از تجـویز خـوراکی کنـدر پارامترهـای حافظه ارزیابی شدند. از این رو پیشنهاد می‌شود پروفایل زمانی اثر تزریق حاد کندر بر پارامترهای یادگیری در روش یـادگیری اجتنابی غیرفعال نیز بررسی شود.

علیرغم مطالعات محدود فوق که اثر تجویز حاد کندر را بر حافظه بررسی کرده‌اند اغلب مطالعات دیگر، کنـدر را در مـدت زمان‌های طولانی تجویز کرده‌اند. تجویز کندر بـه مـدت ۱۸۰ روز در موش‌های صحرایی نر که به علت هیپوتیروئیدی دچـار نقص حافظه شده بودند باعث تقویت حافظه ایـن حیوانـات در آزمون ماز آبی موریس شد [۱۱]. مصرف سه روز پشت سر هم عصاره آبی کندر در روش یادگیری اجتنـابی غیرفعـال موجـب بهبود میزان یادگیری در موش‌های سـالم و مـوش‌هـایی کـه حافظه آن‌ها توسط کیندلینگ ناشی از پنتیلن تترازول تخریـب شده گردید و تعداد زوائد نورونی را در ناحیـه CA1 هیپوکمـپ افزایش داد [۲۰]. همچنین تجویز عصاره کندر به مـوش‌هـای صحرایی بالغ هر هشت ساعت یک‌بار و بـه مـدت یـک، دو و چهار هفته و همچنین اسیدهای بوسولیک[1] هر هشـت سـاعت یک‌بار به مدت دو هفته موجب بهبود بازخوانی حافظه فضـایی در روش ماز آبی موریس گردید [۲۶].

مصرف عصاره آبـی کنـدر در دوران بحرانـی رشـد و نمـو دستگاه عصبی جنین و نوزادان مـوش‌هـای صـحرایی (از روز دهم حاملگی تا روز دهـم بعـد از زایمـان هـر ۵ روز یـک‌بـار) موجب بهبود نگهداری حافظه در روش ماز آبـی مـوریس شـد [۵]. از طرفی مصرف کندر در دوران بارداری به ترتیـب باعـث افزایش اندازه نورون‌ها و افزایش تعداد انشعابات دنـدریت‌هـای آن‌ها در ناحیه CA3 هیپوکامپ موالید نر گردید [۱۳]. مصرف عصاره آبی کندر در دوران شیردهی توسط مادر باعث افـزایش حجم لایه‌های سلولی شکنج دندانه‌ای و هرمـی ناحیـه CA3 هیپوکمپ در موش‌های صحرایی جوان شد و این افـزایش بـا بزرگ شدن حجم جسم سلولی نورون‌های هیپـوکمپی نـواحی مذکور همراه بود [۱۴]. همچنین مصرف طولانی مـدت کنـدر (۸ هفته) موجب افزایش تعـداد شـاخه‌هـای دنـدریتی و طـول دندریت‌های نورون‌های ناحیه CA1 هیپوکمپ در موش‌هـای صحرایی پیر (دوساله) گردید [۱۰].

مطالعه دیگری نشان داده است کـه بتـا بوسـولیک اسـید باعث افزایش زوائد دنـدریتی نـورون‌هـای هیپوکمـپ جنینـی می‌شود [۲۱]. از این رو به نظر می‌رسـد بخـش عمـده اثـرات کندر بر بهبود حافظـه ناشـی از تغییـرات وسـیع سـاختاری در نـواحی مختلـف مغـزی دخیـل در پـردازش حافظـه ازجملـه هیپوکمپ باشد. این تغییرات ساختاری متعاقباً عملکـرد مغـز را بهبود می‌بخشند. از طرفی نشان داده شده عصاره‌های کنـدر و اسیدهای بوسولیک می‌تواننـد پـروتئین کینازهـا را نیـز فعـال نمایند [۱، ۳۳]. این پروتئین کینازها برای ایجـاد پلاستیسـیتی سیناپسی [۳۰] و تشکیل حافظـه درازمـدت موردنیـاز هسـتند [۳۵].

یافته اصلی این تحقیق این است که تجویز مزمن عصـاره آبی کندر موجب کاهش قابل ملاحظه نقص حافظـه ناشـی از تزریــق داخــل بطنــی استرپتوزوتوســین مــی‌شــود. تزریــق استرپتوزوتوسین به داخل بطن‌هـای مغـزی مـوش صـحرایی، اثراتی مشابه با بیماری آلزایمر نوع تک‌گیـر ایجـاد مـی‌کنـد و مدل مناسبی برای مطالعه این بیماری اسـت. بیمـاری آلزایمـر همراه با چند تغییر پاتولوژیک عمده ازجمله تجمع پـلاک‌هـای بتا آمیلوئید در خارج سـلول‌هـای عصـبی، تجمـع رشـته‌هـای نوروفیبریلاری در داخل سلول‌ها و به دنبال آن التهاب عصـبی است [۳]. التهاب عصبی موجب آزادسـازی ترکیبـات مختلـف ازجمله سیتوکینهایی مانند فاکتور نکـروز دهنـده تومـور آلفـا و اینترلوکین های ۱ و ۶ می‌شود که می‌تواننـد موجـب افـزایش گونه‌های فعال اکسیژن، استرس اکسیداتیو و درنهایـت مـرگ نورونی شوند [۲۸]. نشان داده شـده اسـت کـه تزریـق داخـل بطنی استرپتوزوتوسین نیز باعـث اسـترس اکسـیداتیو و مـرگ نورونی در مغز می‌شود [۳۶]. در ایـن ارتبـاط، مشـخص شـده است که کندر دارای اثرات ضدالتهابی و ضـد اکسـیدانی قـوی

1. Boswellic acid

است [۲، ۴]. غربالگری اولیه از عصاره *Boswellia carteri* حضور ترکیبات تری‌ترپنوئید[1]، پلی فنول‌ها[2] و فلاونوئیدها[3] را نشان داده است [۲۴]. نتیجه آنالیز ترکیبات، میزان تری-ترپنوئید بیشتری را در عصاره هیدروالکلی و میزان فلاونوئید و پلی فنول بیشتری را در عصاره آبی کندر نشان داده است. مطالعات مختلف نشان داده اند که استفاده از گیاهان دارای ترکیب پلی فنول می‌توانند جلوی اختلال شناختی که در نتیجه استرس اکسیداتیو ایجاد می‌شود را بگیرند [۲۲]. نشان داده شده که یکی از ترکیبات کندر بنام استات اینسنسول[4] و مشتقات آن از طریق اثرات ضدالتهابی باعث حفاظت نورونی می‌شوند [۲۷]. همچنین اسیدهای تری ترپنوئیدی موجود در کندر به‌ویژه بتا بوسولیک اسید و مشتقات آن از طریق مهار اختصاصی آنزیم ۵-لیپواکسیژناز و مهار بیوسنتز لکوترین ها اثر ضدالتهابی دارند [۲]. هارتمن و همکارانش در سال ۲۰۱۴ نشان دادند که پیش تیمار و تیمار موش‌های صحرایی با کندر (۳۴/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز) به‌طور معنی‌داری باعث کاهش لیپید پر اکسیداسیون و نیتریک اکسید و نیز آنزیم نیتریک اکسید سنتاز می‌شود و از این طریق موجب کاهش آسیب بافتی ناشی از کولیت السراتیو می‌گردد [۹]. همچنین عمر و همکارانش در سال ۲۰۱۴ نشان دادند که مصرف روزانه کندر (۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به مدت ۲۱ روز موجب کاهش معنی‌دار لیپید پراکسیداز، کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز، نیتریک اکسید و میلو پراکسیداز می‌شود و از این طریق موجب بهبود آرتریت روماتوئید ایجادشده به‌وسیله کلاژن می‌گردد [۴۲]. ازاین‌رو محتمل است که بخش عمده اثر کندر در کاهش نقص حافظه ناشی از تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین، به دلیل اثرات ضدالتهابی و ضد اکسیدانی آن باشد.

گزارش شده است که تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین از طریق از بین بردن سلول‌های اپاندیمی با مکانیسمی ناشناخته موجب بزرگ شدن بطن‌ها به میزان ۱۰۰-۱۵۰ ٪ می‌شود [۳۷]. در این مطالعه نیز تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین به میزان زیادی موجب بزرگ شدن بطن‌ها گردید. تجویز عصاره آبی کندر به مدت ۲۱ روز از یک هفته پیش از تزریق استرپتوزوتوسین تا ۱۴ روز پس‌ازآن توانست به میزان زیادی جلوی این اثر استرپتوزوتوسین را بگیرد (شکل ۴). این یافته نیز نشان‌دهنده اثرات محافظت نورونی عصاره آبی کندر است که می‌تواند در نتیجه تمامی اثرات ذکرشده ایجاد شود.

در بیماری آلزایمر نورون‌های استیل کولینرژیک مغز دچار کم‌کاری و مرگ تدریجی می‌شوند [۳۳]. تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین نیز موجب کاهش فعالیت استیل کولین ترانسفراز و آسیب نورون‌های آوران کولینرژیکی می‌گردد [۳۶]. استیل کولین میانجی عصبی است که در مغز به‌ویژه در هیپوکامپ بسیار فراوان یافت می‌شود و در بسیاری از اعمال عصبی ازجمله یادگیری و حافظه نقش دارد. این مسئله موجب پیشنهاد فرضیه کولینرژیک شده است که بر مبنای آن نقصان استیل کولین برای ایجاد علائم بیماری آلزایمر ضروری است [۴۱]. ازاین‌رو رویکرد درمانی اصلی برای آلزایمر شامل تلاش برای افزایش عملکرد کولینرژیک مغز بوده است. دراین‌ارتباط گزارش‌شده است که عصاره آبی کندر (با دوزهای ۴۵ و ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) موجب افزایش معنی‌دار سطح استیل کولین مغز و کاهش سطح آنزیم استیل کولین استراز در مقایسه با موش‌های آلزایمری شده توسط کلرید آلومینیوم می‌شود [۴۳]. گزارش شده است که رزین حاصل از انواع مختلف کندر برحسب میزان اسید بوسولیک خود می‌توانند اثرات ضد استیل کولین استرازی نشان دهند. همچنین گزارش شده است که ۱۱ – هیدروکسی بتا بوسولیک اسید جداشده از *Boswellia carteri* دارای اثرات مهاری روی استیل کولین استراز است. تعدادی از مونوترپنوئیدهای[5] کندر ازجمله آلفا پینن[6] نیز می‌توانند آنزیم استیل کولین استراز را مهار کنند [۱۶]. نکته مهم این‌که اخیراً مشخص‌شده که مهارکننده‌های استیل کولین استراز همچنین سلول‌ها را از آسیب ایجادشده توسط رادیکال‌های آزاد و بتا آمیلوئید حفظ کرده و از آزاد شدن سیتوکینها از میکروگلیاها به‌طور مستقیم جلوگیری می‌کنند

1. Triterpenoid
2. Polyphenol
3. Flavonoid
4. Incensole acetate
5. Monotrepenoid
6. α-Pinene

[۴۰]. از این‌رو اعتقاد بر این است که اثر مهارکننده‌های استیل کولین استراز بر بهبود بیماری آلزایمر تنها از طریق افزایش انتقال سیناپس‌های کولینرژیک نبوده بلکه به دلیل اثرات ضدالتهابی آن‌ها نیز می‌باشد. لذا به نظر می‌رسد بخشی از اثر کندر در کاهش نقص حافظه در روند ایجاد آلزایمر ناشی از استرپتوزوتوسین، به‌واسطه اثر آن بر بهبود عملکرد سیستم کولینرژیک مغز بوده است.

در تائید نتایج حاصل از این تحقیق و تقریباً همزمان با کار ما، یاسین و همکارانش در مصر در سال ۲۰۱۳ نشان دادند که تجویز عصاره آبی کندر (با دوزهای ۴۵ و ۹۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در موشهای صحرایی به مدت ۱۲ هفته دارای اثر محافظتی و درمانی در آلزایمر ایجاد شده توسط کلرید آلومینیوم است [۴۳]. با توجه به نتایج حاصل از آن مطالعه و مطالعه حاضر پیشنهاد می‌شود در افرادی که خطر ابتلا به بیماری آلزایمر در آن‌ها بالا است، مصرف مزمن عصاره آبی کندر در رژیم غذایی روزانه گنجانده شود. مطالعات بیشتر به‌منظور شناسایی ترکیبات مؤثر در عصاره کندر می‌تواند منجر به تولید داروهای کاهش دهنده خطر ابتلا به بیماری آلزایمر شود.

درمجموع نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهند که مصرف مزمن عصاره آبی کندر در موش‌های صحرایی سالم می‌تواند موجب بهبود بازخوانی حافظه در روش یادگیری اجتنابی غیرفعال شده و همچنین نقصان حافظه ناشی از تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین را کاهش دهد.

سپاسگزاری

این پژوهش در بخش علوم جانوری گروه زیست‌شناسی دانشگاه اصفهان و با حمایت مالی این دانشگاه انجام گرفت. همچنین از جناب آقای دکتر شایگان مدیرعامل محترم شرکت داروسازی رها برای در اختیار قرار دادن کندر قدردانی می‌گردد.

References

[1] Altmann A, Poeckel D, Fischer L, Schubert-Zsilavecz M, Steinhilber D, Werz O, Coupling of boswellic acid-induced Ca2+ mobilisation and MAPK activation to lipid metabolism and peroxide formation in human leucocytes. ***Br J Pharmacol*** 141 (2004) 223-232.

[2] Ammon H P, Modulation of the immune system by Boswellia serrata extracts and boswellic acids. ***Phytomedicine*** 17 (2010) 862-867.

[3] Bamburg J R, Bloom G S, Cytoskeletal pathologies of Alzheimer disease. ***Cell Motil Cytoskeleton*** 66 (2009) 635-649.

[4] Banno N, Akihisa T, Yasukawa K, Tokuda H, Tabata K, Nakamura Y, Nishimura R, Kimura Y, Suzuki T, Anti-inflammatory activities of the triterpene acids from the resin of Boswellia carteri. ***J Ethnopharmacol*** 107 (2006) 249-253.

[5] Behnamrasuli M, Hosseinzadeh H, G G, Emproving effect of Frankincense extract on memory. ***Tarbiat Moalem University J Sci*** 1 (2001) 1-13.

[6] Blennow K, de Leon M J, Zetterberg H, Alzheimer's disease. ***Lancet*** 368 (2006) 387-403.

[7] Duke J A, ***Handbook of Phytochemical Constituents of GRAS Herbs and Other Economic Plants: Herbal Reference Library***, Taylor & Francis, 2000.

[8] Farshchi A, Ghiasi G, Farshchi S, Malek Khatabi P, Effects of boswellia papyrifera gum extract on learning and memory in mice and rats. ***Iran J Basic Med Sci*** 13 (2010) 9-15.

[9] Hartmann R M, Fillmann H S, Morgan Martins M I, Meurer L, Marroni N P, Boswellia serrata has Beneficial Anti-Inflammatory and Antioxidant Properties in a Model of Experimental Colitis. ***Phytother Res*** 28 (2014) 1392-1398.

[10] Hosseini-sharifabad M, Esfandiari E, Effect of Boswellia serrata gum resin on the morphology of hippocampal CA1 pyramidal cells in aged rat. ***Anat Sci Int*** (2014) 1-7.

[11] Hosseini M, Hadjzadeh M A, Derakhshan M, Havakhah S, Rassouli F B, Rakhshandeh H, Saffarzadeh F, The beneficial effects of olibanum on memory deficit induced by hypothyroidism in adult rats tested in Morris

water maze. ***Arch Pharm Res*** 33 (2010) 463-468.

[12] Hosseini M, Shafei M N, Safari V, Taiarani Z, Kafami Ladani m, Sadeghian R, The effects of olibanum administered to methimazole-treated dams during lactation on learning and memory of offspring rats. ***Nat Prod Res*** 26 (2012) 1544-1548.

[13] Hosseini Sharifabad M, Esfandiari E, A morphometeric study on CA3 hippocampal field in young rats following maternal administration of Boswellia serrata resin during gestation. ***Iran J Basic Med Sci*** 10 (2007) 176-182.

[14] Hosseini Sharifabad M, Esfandiari E, Effect of Boswellia serrata Triana & Planch. gum resin administration during lactation on morphology of pyramidal neurons in hippocampus of rat. ***J Herbal Drugs*** (2011) 45-52.

[15] Hosseinzadeh H R M, Akhtar Y, Ziaie ST, Evaluation of ethyl acetate and N-botanolic fractions of Frankincense on learning and memory of rats in the Morris water maze. ***Herbal Drugs*** 34 (2009) 95-101.

[16] Houghton P J, Ren Y, Howes M J, Acetylcholinesterase inhibitors from plants and fungi. ***Nat Prod Rep*** 23 (2006) 181-199.

[17] Hoyer S, The aging brain. Changes in the neuronal insulin/insulin receptor signal transduction cascade trigger late-onset sporadic Alzheimer disease (SAD). A mini-review. ***J Neural Transm*** 109 (2002) 991-1002.

[18] Hoyer S, The brain insulin signal transduction system and sporadic (type II) Alzheimer disease: an update. ***J Neural Transm*** 109 (2002) 341-360.

[19] Hoyer S, Lee S K, Loffler T, Schliebs R, Inhibition of the neuronal insulin receptor. An in vivo model for sporadic Alzheimer disease? ***Ann N Y Acad Sci*** 920 (2000) 256-258.

[20] Jalili C, Salahshoor M R, Moradi S, Pourmotabbed A, Motaghi M, The therapeutic effect of the aqueous extract of boswellia serrata on the learning deficit in kindled rats. ***Int J Prev Med*** 5 (2014) 563-568.

[21] Karima O, Riazi G, Yousefi R, Movahedi A A, The enhancement effect of beta-boswellic acid on hippocampal neurites outgrowth and branching (an in vitro study). ***Neurol Sci*** 31 (2010) 315-320.

[22] Khan M B, Khan M M, Khan A, Ahmed M E, Ishrat T, Tabassum R, Vaibhav K, Ahmad A, Islam F, Naringenin ameliorates Alzheimer's disease (AD)-type neurodegeneration with cognitive impairment (AD-TNDCI) caused by the intracerebroventricular-streptozotocin in rat model. ***Neurochem Int*** 61 (2012) 1081-1093.

[23] Kihara T, Shimohama S, Alzheimer's disease and acetylcholine receptors. ***Acta Neurobiol Exp (Wars)*** 64 (2004) 99-105.

[24] Kokkiripati P K, Bhakshu L M, Marri S, Padmasree K, Row A T, Raghavendra A S, Tetali S D, Gum resin of Boswellia serrata inhibited human monocytic (THP-1) cell activation and platelet aggregation. ***J Ethnopharmacol*** 137 (2011) 893-901.

[25] Krohn K ,Rao M S, Raman N V, Khalilullah M, High-performance thin layer chromatographic analysis of anti-inflammatory triterpenoids from Boswellia serrata Roxb. ***Phytochem Anal*** 12 (2001) 374-376.

[26] Mahmoudi A, Hosseini-Sharifabad A, Monsef-Esfahani H R, Yazdinejad A R, Khanavi M, Roghani A, Beyer C, Sharifzadeh M, Evaluation of systemic administration of Boswellia papyrifera extracts on spatial memory retention in male rats. ***J Nat Med*** 65 (2011) 519-525.

[27] Moussaieff A, Shein N A, Tsenter J, Grigoriadis S, Simeonidou C, Alexandrovich A G, Trembovler V, Ben-Neriah Y, Schmitz M L, Fiebich B L, Munoz E, Mechoulam R, Shohami E, Incensole acetate: a novel neuroprotective agent isolated from Boswellia carterii. ***J Cereb Blood Flow Metab*** 28 (2008) 1341-1352.

[28] Mucke L ,Neuroscience: Alzheimer's disease. ***Nature*** 461 (2009) 895-897.

[29] Mukherjee P K, Kumar V, Mal M, Houghton P J, Acetylcholinesterase inhibitors from plants. ***Phytomedicine*** 14 (2007) 289-300.

[30] Nguyen P V, Woo N H, Regulation of hippocampal synaptic plasticity by cyclic AMP-dependent protein kinases. ***Prog Neurobiol*** 71 (2003) 401-437.

[31] Paxinos G, Watson, C, ***The rat brain in stereotaxic coordinates***, Academic Press, 2007.

[32] Placanica L, Zhu L, Li Y M, Gender- and age-dependent gamma-secretase activity in mouse brain and its implication in sporadic Alzheimer disease. ***PLoS One*** 4 (2009) e5088.

[33] Poeckel D, Werz O, Boswellic acids: biological actions and molecular targets. ***Curr Med Chem*** 13 (2006) 3359-3369.

[34] Rodriguiz R M, Wetsel W C, Assessments of Cognitive Deficits in Mutant Mice. In E.D. Levin, J.J. Buccafusco

(Eds.), ***Animal Models of Cognitive Impairment***, Boca Raton (FL), 2006.

[35] Sharifzadeh M, Sharifzadeh K, Naghdi N, Ghahremani M H, Roghani A, Posttraining intrahippocampal infusion of a protein kinase AII inhibitor impairs spatial memory retention in rats. ***J Neurosci Res*** 79 (2005) 392-400.

[36] Sharma M, Gupta Y, Intracerebroventricular injection of streptozotocin in rats produces both oxidative stress in the brain and cognitive impairment. ***Life Sciences*** 68 (2001) 1021-1029.

[37] Shoham S, Bejar C, Kovalev E, Weinstock M, Intracerebroventricular injection of streptozotocin causes neurotoxicity to myelin that contributes to spatial memory deficits in rats. ***Exp Neurol*** 184 (2003) 1043-1052.

[38] Sonkusare S K ,Kaul C L, Ramarao P, Dementia of Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders--memantine, a new hope. ***Pharmacol Res*** 51 (2005) 1-17.

[39] Szkudelski T, The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. ***Physiol Res*** 50 (2001) 537-546.

[40] Tabet N, Acetylcholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease: anti-inflammatories in acetylcholine clothing! ***Age Ageing*** 35 (2006) 336-338.

[41] Terry A V, Jr., Buccafusco J J, The cholinergic hypothesis of age and Alzheimer's disease-related cognitive deficits: recent challenges and their implications for novel drug development. ***J Pharmacol Exp Ther*** 306 (2003) 821-827.

[42] Umar S, Umar K, Sarwar A H, Khan A, Ahmad N, Ahmad S, Katiyar C K, Husain S A, Khan H A, Boswellia serrata extract attenuates inflammatory mediators and oxidative stress in collagen induced arthritis. ***Phytomedicine*** 21 (2014) 847-856.

[43] Yassin N, El-Shenawy S, Mahdy K A, Gouda N, Marrie A, Farrag A, Ibrahim B M, Effect of Boswellia serrata on Alzheimer’s disease induced in rats. ***J Arab Soc Med Res*** 8 (2013) 1-11.