مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۲۰، شماره ۴، زمستان ۸۹، صفحات ۲۲۱ تا ۲۲۷

**Original Article**

# اثر تضعیف کننده عصاره آبی اسطوخودوس بر یادگیری فضایی موش‌های صحرایی آلزایمریک

**مسعود سهیلی کاشانی[۱]، محمود سلامی[۲]، سید علیرضا طلائی زواره[۳]، مهرداد هاشمی[۴]، منیکا متقی[۵]، مصطفی رضایی طاویرانی[۶]**

[۱] کارشناس ارشد زیست شناسی سلولی و مولکولی، دانشگاه خاتم تهران
[۲] دانشیار، دکترای نوروفیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کاشان
[۳] مربی، کارشناسی ارشد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کاشان
[۴] استادیار، دکترای ژنتیک مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پزشکی تهران
[۵] کارشناس ارشد مدیریت خدمات بهداشتی درمانی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران
[۶] دانشیار، دکترای بیوفیزیک، مرکز تحقیقات پروتئومیکس، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

## چکیده

**سابقه و هدف:** *آلزایمر نوعی بیماری پیش‌رونده مغزی است که در آن نورون‌ها تخریب شده و فرد دچار نقصان حافظه می‌شود. تحقیقات زیادی به یافتن درمان مناسب و مؤثر برای آلزایمر اختصاص داده شده است. در این مطالعه اثر عصاره گیاه اسطوخودوس بر یادگیری موش‌های صحرایی آلزایمری در ماز آبی موریس بررسی شد.*

**روش بررسی:** *در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی نر بالغ به صورت تصادفی در ۴ گروه قرار گرفتند: گروه سالم دریافت کننده سالین (CO) و عصاره (CO+E) و گروه آلزایمری دریافت کننده سالین (ALZ) و عصاره (ALZ+E). گروه شاهد یک میلی‌لیتر نرمال سالین و گروه دریافت کننده عصاره، ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه اسطوخودوس را به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. یادگیری حیوانات با استفاده از ماز آبی موریس سنجیده شد. زمان و مسافت طی شده جهت یافتن سکوی پنهان با آنالیز کوواریانس مورد مقایسه قرار گرفت.*

**یافته‌ها:** *حیوانات گروه CO نسبت به گروه ALZ در مدت زمان کمتر و طی مسافت کوتاه‌تری سکو را پیدا کردند. طی شدن مسافت و سپری شدن زمان جهت یافتن سکو در حیوانات دریافت کننده عصاره بیشتر بود. سنجش حافظه بین گروه‌ها تفاوت معنی داری را نشان نداد.*

**نتیجه‌گیری:** *انجام رفتارهای یادگیرانه می‌تواند یادگیری در حیوانات آلزایمری را بهبود بخشد. به علاوه دوز ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره اسطوخودوس باعث ایجاد اختلال در روند یادگیری حیوانات آلزایمری می‌شود.*

**واژگان کلیدی:** *آلزایمر، اسطوخودوس، یادگیری، ماز آبی موریس،موش صحرایی.*

## مقدمه

آلزایمر نوعی بیماری مغزی پیش‌رونده می باشد که در آن ساختار سلولی نورون‌ها تخریب می‌شود و بر حافظه و رفتار تأثیر سوء می‌گذارد (۱). تشکیل پلاک‌های آمیلوئیدی در مغز و اطراف سلول‌های عصبی و نیز فیلامنت‌های نوروفیبریلاری درون سلول‌های مغزی از جمله علت‌های این بیماری به‌شمار می‌روند (۲). مشخص شده است که پلاک‌ها در اثر پردازش ناقص پروتئین APP (Amyloid Precursor Protein) و نوروفیلامنت‌ها در اثر از هم گسستگی ساختار اسکلت نورون‌ها درنتیجه هایپرفسفریلاسیون پروتئین تائو تشکیل می‌شوند

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، مرکز تحقیقات پروتئومیکس، دکتر مصطفی رضایی طاویرانی (**email**: tavirany@yahoo.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۱/۲۲
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۹/۶/۱۱

(۳،۴). از علایم اولیه بیماری مختل شدن تدریجی حافظه به خصوص حافظه فضایی می‌باشد (۷-۵). کاهش میزان استیل کولین در نتیجه آزاد شدن بیش از اندازه استیل کولین استراز نیز می‌تواند عامل دیگری برای ایجاد اختلال در حافظه فضایی افراد آلزایمریک باشد (۸). کاهش کیفیت زندگی و سلامت، تحمیل هزینه‌های هنگفت اجتماعی و درمانی به جامعه از عوارض ثانویه ابتلا به آلزایمر است.

تاکنون داروهای شیمیایی زیادی جهت درمان و یا بهبود عوارض بیماری معرفی شده‌اند. بسیاری از این داروها دارای اثرات جانبی و محدودیت در مصرف می‌باشند و بدین دلیل هنوز به‌عنوان یک داروی موثر جهت درمان و یا بهبود عوارض آلزایمر معرفی نشده‌اند (۹). از آنجایی که گیاهان دارویی دارای اثرات چند جانبه و سوءاثر کمتری هستند، معرفی داروی گیاهی مناسب جهت بهبود بیماران آلزایمری می‌تواند مفید باشد.

اسطوخودوس گیاهی با بوی بسیار مطبوع و طعم تلخ است که در عطر درمانی از آن استفاده می‌شود. عطر درمانی یکی از مهم‌ترین درمان‌های مکمل در درمان افراد مبتلا به انواع ناهنجاری‌های مغزی به شمار می‌رود (۱۰). اسطوخودوس از جمله گیاهانی است که از نظر فیتوشیمی به‌طور وسیع مطالعه شده، اما جنبه‌های درمانی این گیاه هنوز به طور کامل مورد مطالعه قرار نگرفته است. این گیاه در درمان اکثر بیماری‌های وابسته به دستگاه عصبی مرکزی مثل میگرن و صرع موثر است (۱۱). حاج هاشمی و همکارانش با انجام آزمون‌های مختلف، اثر عصاره‌های آبی الکلی و پلی‌فنولی و نیز اسانس این گیاه را به عنوان یک ماده ضدالتهاب بررسی و اثبات کردند (۱۲). همچنین محققین دانمارکی اثر مهارکنندگی عصاره اسطوخودوس روی آنزیم استیل کولین استراز را به اثبات رسانده و تایید کرده‌اند (۱). با انجام آزمایشات کروماتوگرافی مشخص شد که این گیاه دارای ۲۶ ماده مختلف می باشد که Linalyl acetate و Linalool از جمله بیشترین مواد تشکیل دهنده اسانس اسطوخدوس می باشند (۱۳). Linalool دارای خواص بیولوژیکی متفاوت از جمله اثر آرام‌بخشی (سداتیو) و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (۱۴،۱۵). از جمله علایم بیماری آلزایمر که در سنین بالا بروز می‌کند، ناتوانی در حرکت و عدم کنترل فرد است (۱۶). Kim و همکارانش در مطالعه‌ای با بررسی اثر اسطوخودوس بر فعالیت حرکتی (Rotarod activity) موش‌های سوری نشان دادند که دوز ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن اسانس اسطوخودوس سبب افزایش قدرت حرکتی و تعادلی حیوانات در مقایسه با گروه شاهد می‌گردد (۱۷).

در این مطالعه، اثر عصاره آبی سرشاخه‌های گیاه اسطوخودوس بر حافظه فضایی موش‌های صحرایی نر بالغ آلزایمری بررسی شد.

## مواد و روشها

در این تحقیق تجربی، از موش‌های نر بالغ ۲۸۰-۲۲۰ گرمی نژاد ویستار نگهداری شده در شرایط آزمایشگاهی استاندارد از نظر نور و غذا و دما استفاده شد. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی درون قفس‌های ۵ تایی و طبق ضوابط کمیته اخلاق معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان نگهداری می‌شدند.

در این تحقیق، جهت القاء آلزایمر از بتاآمیلوئید ۴۲-۱ ($AB_{1-42}$) استفاده شد. ویال‌های ۱ میلی‌گرمی بتاآمیلوئید (تهیه شده از شرکت Sigma-Aldrich ) پس از اضافه شدن ۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر به آنها به مدت یک هفته درون انکوباتور ۳۷ درجه قرار گرفتند. حیوانات مورد آزمایش به وسیله تزریق کتامین و زایلوزین به نسبت ۱ به ۷ بیهوش شده و درون دستگاه استرئوتکس قرار گرفتند. سپس جمجه حیوانات توسط دریل دندانپزشکی سوراخ شد و مقدار ۲ میکرولیتر از مایع بتا آمیلوئید که حاوی ۱۰ میکروگرم پروتئین بود به‌وسیله سرنگ همیلتون درون بطن مغز حیوانات تزریق شد. پس از ۲۰ روز پلاک‌های آمیلوئیدی در مغز حیوانات تشکیل می‌شود که از طریق تهیه لام پاتولوژیک و رنگ‌آمیزی مخصوص پلاک قابل رویت است (۱۸). پس از این مدت می‌توان آزمایش‌های لازم را روی حیوانات انجام داد.

حیوانات شرکت کننده در این مطالعه شامل ۲ گروه اصلی آلزایمری و سالم بودند. هر کدام از این گروهها به دو زیر گروه دریافت کننده دوز ۱۰۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن عصاره آبی گیاه اسطوخودوس محلول در یک میلی لیتر نرمال سالین به صورت تزریق درون صفاقی (ALZ+E و CO+E) و دریافت کننده یک میلی‌لیتر نرمال سالین (ALZ و CO) تقسیم شدند. گروه ALZ+E، پس از القاء آلزایمر تست ماز را انجام داده و به مدت ۲۰ روز عصاره دریافت کردند و دوباره تست ماز از آنها گرفته شد. حیوانات ALZ نیز پس از انجام ماز اول ۲۰ روز نرمال سالین دریافت کردند و دوباره تست ماز گرفته شد. در مورد گروه CO+E پس از انجام ماز اول عصاره به مدت ۲۰ روز تزریق شده و ماز دوم از آنها گرفته شد. به حیوانات CO نیز به جای عصاره نرمال سالین تزریق شد.

برای سنجش یادگیری و حافظه فضایی از ماز آبی موریس (Morris water maze) استفاده شد. ماز آبی موریس برای

تحقیق در جنبه‌های خاصی از حافظه فضایی به میزان فراوانی مورد استفاده قرار می‌گیرد. اساس این روش بر این پایه استوار است که حیوانات استراتژی مناسبی را برای جستجوی محیط خود و فرار از خطر (در این مورد آب) پیدا کرده که طی آن با حداقل تلاش به نتیجه مطلوب برسند. این ماز یک تانک آب با قطر ۱۸۰ و عمق ۶۰ سانتی‌متر است که تقریباً نیمی از آن از آب پر می‌شود. ماز به چهار قسمت مساوی فرضی تقسیم می‌شود و یک سکوی نجات با ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر در یکی از چهار قسمت قرار می گیرد، به‌طوری‌که بین ۲ تا ۳ سانتی‌متر زیر سطح آب واقع می‌شود و از بیرون قابل دیدن نیست. حرارت آب در حدود ۲۲ درجه سانتی‌گراد تنظیم می شود. ماز در اتاقی قرار می‌گیرد که در آن علایم فضایی مختلفی که در طول آزمایشات ثابت بوده و برای حیوان در ماز قابل دید باشد وجود دارد. این مجموعه از طریق دوربین ردیاب که در ارتفاع ۱۸۰ سانتی‌متری و در بالای مرکز ماز آبی قرار گرفته است مونیتور شده و از طریق اتصال به کامپیوتر اطلاعات مربوط به آزمایش در حال انجام ذخیره می‌گردد. نرم افزار اختصاصی "ردیاب ۱" که توانایی پذیرش تنظیمات مختلف برای آزمایشات متفاوت در ماز آبی را دارد با به‌کار گیری قابلیت‌های TV Tuner نصب شده در کامپیوتر، از روند آزمایش فیلم تهیه کرده و با ذخیره کردن اطلاعات در حافظه کامپیوتر آن را برای آنالیز Offline بعدی نگهداری می‌کند. در این سیستم کافی است تا شروع آزمایش را با بکار اندازی حسگرهای اختصاصی نصب شده در کناره های ماز به نرم افزار مذکور اعلام کنیم. نرم افزار بر اساس تنظیمات قبلی روند آزمایش را تا انتها تعقیب می‌کند و پس از اتمام زمان مورد نظر یا بعد از پایان آزمایش مونیتورینگ را به‌طور اتوماتیک قطع می‌کند.

در طول انجام آزمایش حیوان از یکی از سمت های چهارگانه ماز به طوری که روی آن به طرف دیواره ماز بود، رها شد. انتخاب محل شروع به صورت تصادفی و توسط نرم افزار صورت گرفت. هم‌زمان با رهاسازی حیوان درون آب دکمه شروع برنامه فشار داده شده و برنامه شروع به ضبط و ثبت رفتار حیوان درون ماز کرد. حداکثر زمانی که حیوان جهت پیدا کردن سکو در اختیار داشت، ۹۰ ثانیه بود. در صورتی که حیوان نمی‌توانست در طول این مدت سکو را پیدا کند (معمولاً در روزهای اول اتفاق می‌افتد)، پس از قطع برنامه حیوان به سمت سکو راهنمایی شده و اجازه داده می‌شد تا ۱۵ ثانیه روی آن قرار گیرد. در طول این ۱۵ ثانیه حیوان با توجه به موقعیت سکو و علائم نصب شده در آزمایشگاه موقعیت خود را درون تانک به خاطر می‌سپرد. در صورتی که حیوان به هر دلیل (تصادفی یا با استفاده از علایم) قبل از اتمام ۹۰ ثانیه سکو را پیدا می‌کرد، هم‌زمان با قرارگیری حیوان روی سکو عمل ضبط متوقف شده و جهت به خاطر سپردن علایم، باز هم به حیوان ۱۵ ثانیه وقت داده می‌شد. لازم به ذکر است که این آزمایشات به مدت ۵ شب و هر شب ۴ جلسه با فاصله ۱۰ دقیقه این عمل تکرار می‌شد. در این مراحل روند یادگیری حیوان براساس مدت زمان و مسافت پیموده شده جهت یافتن سکو سنجیده شد.

در پایان روز پنجم پس از اتمام آزمایشات، یک مرحله Probe trial انجام شد. بدین صورت که پس از برداشتن سکو بازهم به صورت تصادفی، حیوان از یکی از جهات درون ماز رها شد. این آزمایش بر این اساس است که با فرض اینکه حیوان محل سکو را به خاطر سپرده باید بیشترین زمان را در ربع محل قرارگیری سکو سپری کند. در صورتی که این نتیجه حاصل شود، مشخص می‌شود که حیوان به طور تصادفی سکو را پیدا نمی‌کرده، بلکه براساس شواهد و علایم موجود در آزمایشگاه موقعیت سکو را تشخیص می داده است. این مرحله برای هر حیوان یکبار تکرار شد که مدت آن همان ۹۰ ثانیه بود و مدت زمان ماندن در ربع محل قرارگیری سکو معیار و میزان سنجش حافظه بود.

نتایج به دست آمده با روش آماری ANOVA و با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۷ مقایسه شدند. به منظور ساده‌تر کردن و درک بهتر و صحیح تری از رفتار حیوانات در گروه‌های مورد آزمایش، میانگین زمان سپری شده و مسافت طی شده توسط حیوانات برای رسیدن به سکو در طول ۴ جلسه روزانه در شکل‌ها به صورت یک نقطه نمایش داده شده است.

## یافته‌ها

جهت سنجش یادگیری در طول مراحل آزمایش، دو فاکتور مدت زمان سپری شده و مسافت پیموده شده برای یافتن سکوی پنهان در ۵ روز تست رفتار ماز آبی موریس مورد ارزیابی و سنجش قرار گرفت. این در حالی است که در سنجش حافظه، زمان سپری شده و مسافت پیموده شده در ربع محل قرارگیری سکو در مرحله پروب حائز اهمیت است؛ لذا در این بخش نتایج مربوط به این دو فاکتور ارائه شده است.

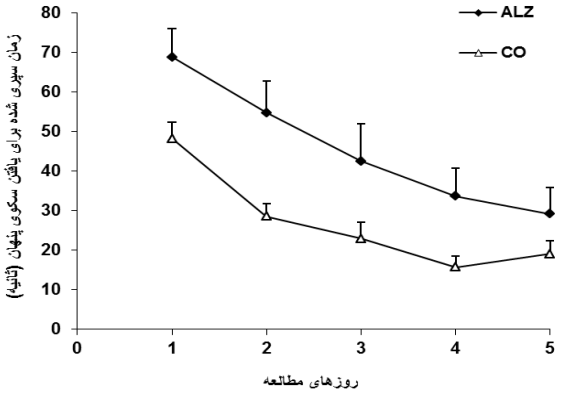
### *مرحله سنجش یادگیری*

۱- آزمایشات مرحله اول:

الف- مدت زمان سپری شده به منظور یافتن سکوی پنهان:

روند یادگیری در همه گروه‌ها از نظر آماری معنی دار بود، یعنی یادگیری حیوانات هم‌زمان با پیشرفت تست رفتار بهبود

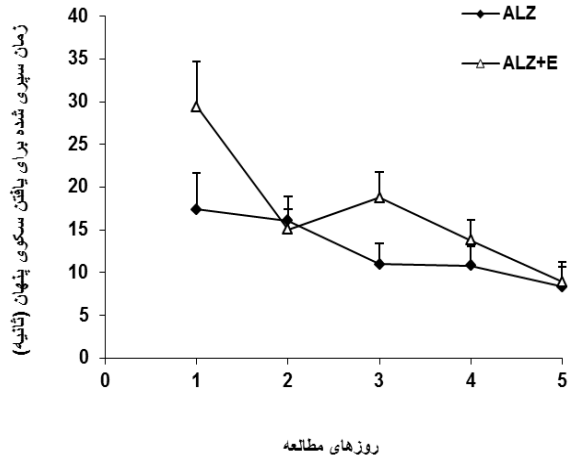
پیدا کرد (p=۰/۰۰۱). همان گونه که در شکل ۱ نشان داده شده است، با بررسی داده‌های به دست آمده از ۲۰ جلسه یادگیری مرحله اول حیوانات دو گروه ALZ و CO در ماز آبی موریس، از نظر آماری تفاوت معنی داری بین گروه‌ها در مورد زمان سپری شده جهت یافتن سکوی پنهان وجود داشت (p<۰/۰۰۰۱).




**شکل ۱**- مدت زمان طی شده در ماز آبی موریس جهت یافتن سکوی پنهان توسط حیوانات گروه های آلزایمری (ALZ) و سالم (CO) در روزهای مختلف آزمایش. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شده‌اند. باتوجه به نتایج آزمون آماری روند یادگیری بین دو گروه اختلاف معنی‌داری داشت.

ب- مسافت طی شده در ماز به منظور یافتن سکوی پنهان:
از نظر مسافت طی شده در ماز آبی موریس جهت پیدا کردن سکوی مخفی، اختلاف مشاهده شده بین گروه‌ها معنی دار بود (p<۰/۰۰۰۱). بررسی داده‌های جمع‌آوری شده از آزمایشات بیان‌گر این است که مسافت پیموده شده جهت یافتن سکوی پنهان در ماز آبی موریس بین دو گروه ALZ و CO از نظر آماری تفاوت معنی‌داری دارد (p<۰/۰۰۰۱).

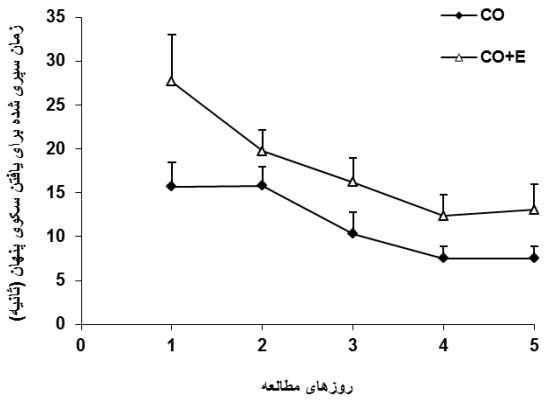
۲- آزمایشات مرحله دوم یادگیری و تعیین اثر عصاره بر بهبود حافظه:
داده‌های مرحله دوم یادگیری از نظر آماری معنی‌دار بودند. در این معنی‌دار بودن دو عامل دخیل است: حافظه به جا مانده از مرحله اول یادگیری و اثر عصاره گیاهی. در نتیجه باید اثر این دو عامل را از هم جدا کرده و اثر عصاره گیاهی را به طور مجزا بررسی کنیم. جهت انجام این کار از آنالیز کوواریانس استفاده شد که در آن داده‌های به دست آمده از مرحله اول یادگیری به عنوان عامل مخدوش کننده در نظر گرفته شد و اثر عصاره گیاهی به تنهایی مورد بررسی قرار گرفت.
الف- مدت زمان سپری شده به منظور یافتن سکوی پنهان:
داده‌های مربوط به ۲۰ جلسه مرحله دوم یادگیری، بیان‌گر وجود تفاوت معنی‌دار بین همه گروه‌های مورد مطالعه بود (p=۰/۰۰۱). شکل ۲ نشان می‌دهد که دریافت دوز ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره گیاه اسطوخودوس برای مدت ۲۰ روز باعث شده است که حیوانات آلزایمری در مقایسه با مرحله قبل مدت زمان بیشتری را برای یافت سکوی پنهان سپری کنند (p=۰/۰۴).



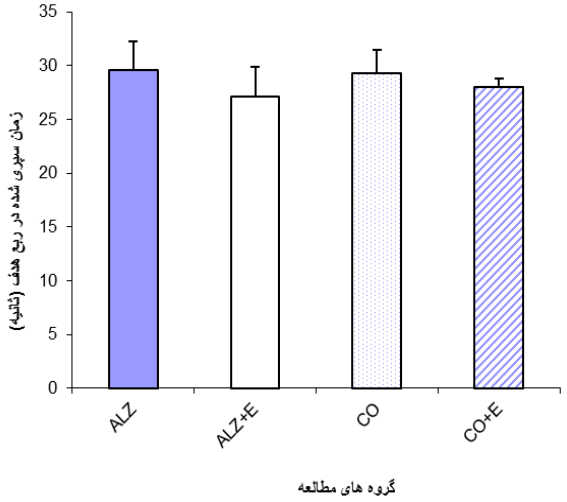

**شکل ۲**- مدت زمان طی شده در ماز آبی موریس جهت یافتن سکوی پنهان توسط حیوانات گروه های ALZ وALZ+E در روزهای مختلف آزمایش در مرحله دوم. نتایج آزمون آنالیز کوواریانس نشان می‌دهد که دریافت عصاره باعث کند شدن روند یادگیری این حیوانات در مقایسه با مرحله قبل شده است.

در مقایسه دو گروه CO و CO+E مشخص شد که دریافت عصاره گیاه مورد نظر بر حیوانات این گروه هم تاثیر منفی دارد و حیوانات این گروه نیز در مقایسه با مرحله قبلی مدت زمان بیشتری را صرف یافتن سکوی پنهان می‌کنند (p=۰/۰۱).
ب- مسافت طی شده در ماز به منظور یافتن سکوی پنهان:
در مرحله دوم یادگیری، بین گروه‌های چهارگانه آزمایش تفاوت معنی‌داری از نظر مسافت طی شده جهت رسیدن به سکوی مخفی وجود داشت (p=۰/۰۰۱). مقایسه داده‌های دو گروه ALZ و ALZ+E از نظر مسافت طی شده جهت یافتن سکوی پنهان بیان‌گر تفاوت معنی‌داری را نشان داد، به طوری که تزریق داخل شکمی عصاره اسطوخودوس به مدت ۲۰ روز باعث کندتر شدن روند یادگیری این حیوانات شد (p=۰/۰۴).
مقایسه داده‌های دو گروه CO و CO+E نیز نتیجه‌ای مشابه با دو گروه قبل را نشان داد، به این صورت که دریافت عصاره مورد نظر باعث شده است که حیوانات گروه شاهد در مقایسه

با مرحله قبل مسافت بیشتری را به منظور یافتن سکوی پنهان بپیمایند (p=۰/۰۰۱).




**شکل ۳**- مدت زمان سپری شده در ماز آبی موریس جهت یافتن سکوی پنهان توسط حیوانات CO و CO+E طی ۵ روز متوالی مرحله دوم آزمایش. نتایج آزمون آنالیز کوواریانس حاکی از این است که دریافت عصاره اسطوخدوس باعث کند شدن روند یادگیری این حیوانات در مقایسه با مرحله قبل شده است.




**شکل ۴**- زمان سپری شده در ربع محل قرارگیری سکو در آزمایش پروب توسط حیوانات گروه‌های مختلف آزمایش.

### *مرحله سنجش حافظه (پروب)*

داده‌های این مرحله نشان داد که از نظر مدت زمان سپری شده (شکل ۴) در ربع هدف (NS) و نیز مسافت پیموده شده در ربع مذکور (NS) تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه‌های آزمایش وجود ندارد.

## بحث

نتایج مربوط به مرحله اول یادگیری نشان داد که حیوانات گروه CO در مقایسه با گروه ALZ در مدت زمان کمتر و با طی مسافت کمتری سکو را پیدا کردند. این بدان معنی است که یادگیری حیوانات گروه CO بهتر از گروه ALZ است. نتایج حاصل از مرحله دوم یادگیری نیز نشان داد که یادگیری حاصل از مرحله اول بر رفتار حیوانات اثر مثبت دارد، به طوری‌که بین گروه CO و ALZ تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، یعنی هر دو گروه در مدت زمان مشابه و با طی کردن مسافت برابر سکو را یافتند. همچنین عصاره گیاه اسطوخودوس با دوز ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم روی یادگیری حیوانات همه گروه‌ها اثر منفی داشته و باعث بدتر شدن روند یادگیری آنها شد، هرچند روی تثبیت حافظه حیوانات اثری نداشت.

آلزایمر نوعی بیماری پیشرونده و فعال می‌باشد که معمولاً در سنین بالا ایجاد می‌شود. عوامل مختلفی از جمله اثر سمیتی پلاک‌های آمیلوئیدی روی بافت مغزی و التهاب ناشی از پلاک‌ها در ایجاد این بیماری دخیل هستند. با مقایسه مغز بیماران آلزایمری و افراد سالم هم‌سن مشاهده شده است که میزان میانجی‌های التهابی در مغز بیماران آلزایمری نسبت به افراد سالم افزایش می‌یابد (۱۹، ۲۰). پیشرفت بیماری آلزایمر همراه با اختلالات رفتاری و شناختی، از دست رفتن تدریجی حافظه به خصوص حافظه فضایی و عدم توانایی در جهت‌یابی است (۲۱، ۲۲). شاید یکی از علل تضعیف شدن روند یادگیری در موش های آلزایمریک ما نیز پیشرفت بیماری این حیوانات بوده است. Se Hoon Choi و همکارانش در بررسی اثر تزریق بتا آمیلوئید در مغز موش‌های صحرایی و تاثیر آن بر یادگیری دریافتند که این حیوانات در مقایسه با حیوانات شاهد در مدت زمان بیشتر سکوی مخفی درون ماز آبی را پیدا می‌کنند. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تزریق بتا آمیلوئید در مغز سبب آسیب رساندن به حافظه می‌شود (۲۳). این نتیجه در تحقیق مشابهی توسط Anchalee Kam-eg و همکارانش نیز به دست آمد (۲۴). نتایج این تحقیقات با نتایج به‌دست آمده از آزمایش ما موافق است، به طوری‌که بین حیوانات گروه CO و ALZ در مرحله اول یادگیری از نظر زمان و مسافت طی شده تفاوت معنی‌داری وجود داشت.

اسطوخودوس گیاهی با بوی بسیار مطبوع می‌باشد و در عطردرمانی از آن استفاده می‌شود. محققین هنگ‌کنگی اثر سه هفته بوئیدن این گیاه در بهبود اختلالات رفتاری روی افراد مبتلا به ناهنجاری‌های مغزی را مورد مطالعه قرار دادند و بهبود معنی‌داری را در این افراد مشاهده کردند (۱۰). عصاره و اسانس اسطوخودوس می‌تواند از راه‌های مختلفی سبب بهبود و تقویت حافظه شود. Lehrner و همکارانش اثر عطر

اسطوخودوس و پرتقال بر رفتار و اضطراب را بررسی کردند. در این مطالعه که روی ۲۰۰ نفر انجام شد، گروه دریافت کننده عطر اسطوخودوس و پرتقال در مقایسه با گروه شاهد بهبود رفتار و کاهش اضطراب را نشان دادند. مشخص شده است که Linalool ترکیب مشترک بین اسطوخدوس و پرتقال است (۲۵).

اثبات شده که فعالیت زیاد آنزیم استیل کولین استراز و در نتیجه کاهش میزان استیل کولین و کاهش انتقال سیناپسی نیز می‌تواند در ایجاد آلزایمر و از بین رفتن حافظه فضایی نقش داشته باشد (۲۶، ۲۷). Anne Adserson و همکاران اثر مهارکنندگی عصاره اسطوخودوس در غلظت‌های مختلف روی آنزیم استیل کولین استراز را از طریق انجام تست‌های مختلف بر رده‌های سلولی به اثبات رساندند و بهبود یادگیری و حافظه در اثر بالارفتن میزان استیل کولین از نتیجه این تحقیق بود (۱، ۲۸).

التهاب ناشی از اثر سمیتی پلاک‌های آمیلوئیدی در بافت مغز بیماران آلزایمری از جمله علل و علائم بیماری آلزایمر است. در تحقیقی توسط حاج هاشمی و همکاران اثر ضد التهابی اسطوخودوس بررسی شد. در این مطالعه سه نوع مختلف عصاره و اسانس گیاه در سه دوز مختلف روی حیوانات اثر داده شد و از طریق انجام تست‌های مختلف اثر درمانی این گیاه بر درد و التهاب به اثبات رسید (۱۲). همچنین اثبات شد که عصاره آبی اسطوخودوس در کاهش میزان نوروتوکسیسیتی بر سلول‌های بافت مخچه موش‌های صحرایی موثر است (۱). بر خلاف مطالب ذکر شده، نتایج حاصل از مطالعه ما حاکی از این بود که دوز ۱۰۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره گیاه اسطوخودوس باعث ایجاد اختلال در روند یادگیری حیوانات هر دو گروه می‌شود. شاید علت این امر بروز آثار سمی ناشی از دوز بالای عصاره این گیاه طی ۲۰ روز تزریق باشد که این امر مطالعات بیشتری را می طلبد.

در مجموع می‌توان گفت آلزایمر باعث ایجاد اختلال در روند یادگیری موش‌های صحرایی می‌شود و این در حالی است که انجام رفتارهای یادگیرانه می‌تواند باعث جلوگیری از بروز این اثر آلزایمر شود. همچنین دوز بالای عصاره گیاه اسطوخودوس نه تنها در بهبود یادگیری موثر نیست، بلکه باعث ایجاد اختلال در روند یادگیری می‌شود. البته انجام مطالعات بیشتر با دوزهای پایین‌تر عصاره و بررسی اثر آن بر بهبود آلزایمر ضروری است.

## تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از آقایان مهندس محمد کمالی نژاد و دکتر رضا بخردی به خاطر همکاری‌های ایشان در انجام این پروژه تحقیقاتی کمال تشکر و قدردانی را به عمل می‌آورند. همچنین از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان به دلیل تامین هزینه‌های مالی طرح سپاسگزاری می‌گردد.

## *REFERENCES*

1. Adsersen BG, Gudiksen L, Jager AK. Screening of plants used in Danish folk medicine to treat memory dysfunction for acetylcholinesterase inhibitory activity. J Ethnopharmacol 2006; 104: 418-22.
2. Resende R, Proenca T. Brain oxidative stress in a triple-transgenic mouse model of Alzheimer's disease. Free Radical Biol Med 2008; 44: 2051-57.
3. Albani D, Artuso V. Preseilin-1 mutation E318G and familial Alzheimer's Disease in the Italian population. Neurol Aging 2007; 28: 1682-88.
4. Vepsalainen S. A molecular genetic study and expression-based analysis of risk factors of Alzheimer's disease. Department of Neurology Series of Reports 2007; 90: 119.
5. Huang XM, Atwood CS, Moir RD, Tanzi RE, Bush AI. Alzheimer's disease, ß-amyloid protein and zinc. USA: American Society for Nutritional Sciences; 2000. p.1488-92.
6. Gonzalo R, Perez JL, Sanz JM, Geula C, Arevalo J. Effects of lipids and aging on neurotoxicity and neuronal loss caused by intracerebral injection of the amyloid-B peptide in the rat. Experiment Neurol 2006; 197: 41-55.
7. Guariglia CC. Spatial working memory in Alzheimer's disease. Dementia Neuropsychol 2007; 1: 392-95.
8. Margita Dinamarca MA, Enrique T. Release of acetylcholine esterase (AChE) from B-amyloid plaque assemblies improves the spatial memory impairment in APP-transgenic mice. Chem Biol Interact 2008; 175: 142-49.
9. Jahko W, ed. Neurology in clinical practice. 5th edition. New York: Elsevier; 2008. p.1871.
10. Pamela Wan-ki L, Bacon Fung-leung Ng, Linda Chiu-wa L. Efficacy of aromatherapy (Lavandula angustifolia) as an intervention for agitated behaviours in Chinese older persons with dementia: a cross-over randomized trial. Int J Geriatr Psychiatr 2007; 22: 405-10.

11. Kim HM, Cho SH. Lavender oil inhibits immediate-type allergic reaction in mice and rats. J Pharmacy Pharmacol 1999; 51: 221-26.

12. Hajhashemi V, Ghannadi A, Sharif B. Anti-inflammatory and analgesic properties of the leaf extracts and essential oil of Lavandula angustifolia Mill. J Ethnopharmacol 2003; 89: 67-71.

13. Toyoshi U, Kimiyo N, Hiroyasu I, Kiyomi K, Misao S, Masatoshi M. Anticonflict effect of lavender oil and identification of its active constituents. Pharmacol Biochem Behav 2006; 85: 713-21.

14. Adam SA, Kokkini S, Lanaras T, Arsenakis M. Antifungal activities of Origarnum vulgare subsp. Hirtum, Mentah spicata, Lavandula angustifolia and Salvia fruticose essential oils against human pathogenic fungi. J Agric Food Chem 1998; 46: 1739-45.

15. Dorman DS, Noble RC. Evaluation in vitro of plant essential oils as natural antioxidants. J Essent Oil Res 1995; 7: 645-51.

16. Friedland RF, Smyth T, Koss K, Lerner E, Chen A. Patients with Alzheimer's disease have reduced activities in midlife compared with healthy control-group members. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 2004; 98: 3440-45.

17. Younghee Kim MK, Hyunji K, Kisok K. Effect of lavender oil on motor function and dopamine receptor expression in the olfactory bulb of mice. J Ethnopharmacol 2009; 125: 31-35.

18. Wilcock DM, Gordon MN, Morgan D. Quantification of cerebral amyloid angiopathy and parenchymal amyloid plaques with Congo red histochemical stain. Nat Protocols 2006; 1: 1591-95.

19. Akiyama H, Arai T, Kondo H, Tanno E, Haga C, Ikeda K. Cell mediators of inflammation in the Alzheimer disease brain. Alzheimer Dis Assoc Disord 2000; 14: S47–53.

20. Joseph Quinn TM, Jason M, William R, Doris K, Felix E. Inflammation and cerebral amyloidosis are disconnected in an animal model of Alzheimer's disease. J Neuroimmunol 2003; 137: 32–41.

21. Gozes AB, Reshef A, Zamostiano R, Zhukovsky S, Rubinraut S, Fridkin M, et al. Neuroprotective strategy for Alzheimer disease: intranasal administration of a fatty neuropeptide. Proc Natl Acad Sci USA 1996; 93: 427-32.

22. Cherrier MM, Amory JK, Asthana S, Bremner W, Peskind ER, Raskind MA, et al. Testosterone improves spatial memory in men with Alzheimer disease and mild cognitive impairment. Neurology 2005; 64: 2063–68.

23. Se hoon choi C, Ja wook K, Ji-Heui S, Hye-Sun K, Sung-Jin J, Jun-Ho L, et al. Memory impairment and cholinergic dysfunction by centrally administered Ab and carboxyl-terminal fragment of Alzheimer's APP in mice. The FASEB Journal, 2001; 15: 221-28.

24. Anchalee K, Butterfield DA, Boyd-Kimball D, Castegna A. Preliminary Study on Effects of a Standardized Extract of Centella asiatica, ECa 233, on Deficit of Learning and Memory induced by an Intracerebroventricular Injection of Amyloid Peptide in Mice. Thai J Pharmacol 2009; 31: 618-24.

25. Lehrner GM, Lehr S, Johren P, Deecke L. Ambient odors of orange and lavender reduce anxiety and improve mood in a dental office. Physiol Behav 2005; 86: 92-95.

26. Alvarez A, Opazo C, Alarco ÂR, Garrido J, Inestrosa NC. Acetylcholinesterase promotes the aggregation of the amyloid-β-peptide fragments by forming a complex with the growing fibrils. J Mol Biol 1997; 272: 348-61.

27. Kiyofumi Yamada TN. Animal models of Alzheimer's disease and evaluation of anti-dementia drugs. Pharmacol Ther 2000; 88: 93-113.

28. Perry N, Court G, Bidet N, Court J, Perry E. European herbs with cholinergic activities: potential in dementia therapy. Int J Geriatr Psychiatr 1996; 11: 1063-69.