

Research Article

The effect of plant flavonoids on memory disorders and oxidative stress determining in male Alzheimer's rats treated with streptozotocin

Seyed Reza Pourrabie *

Department of Biology, Faculty of Faculty of Basic Sciences, Marand Branch, Islamic Azad University, Marand, Iran

Key Words

Alzheimer
Flavonoid
Learning
Oxidative stress
Rat

Abstract

Introduction: Alzheimer's disease is one of the most common neurodegenerative diseases. Beta-amyloid plaques and neurofibrillary tangles are two important factors in Alzheimer's disease. Many cellular changes, such as oxidative stress, neuronal inflammation, and mitochondrial disorders are also seen in Alzheimer's disease, which lead to neuronal death. The flavonoids in the chamomile plant (*Matricaria recutita*) have great effects on disorders caused by brain diseases such as Alzheimer's disease due to the production of antioxidants.

Materials & Methods: In this study, the effects of chamomile plant flavonoids on memory disorders in Alzheimer's rats were studied. For this purpose, the alcoholic extract of the collected chamomiles and chemical analysis of chamomile essential oil (GC/MS) were used to prepare and purify flavonoids. In this study, 56 adult male rats were divided into 7 groups including control - vehicle 1 (solvent of flavonoids) and vehicle 2 (solvent of streptozotocin drug) - Alzheimer's - flavonoid 20mg/kg - flavonoid 50mg/kg - flavonoid 100mg/kg - used. Diabetes was induced by injecting a single dose of 60 mg/kg streptozotocin intraperitoneally. Flavonoids were administered for 15 days. The shuttle box device was used to measure memory and learning and the delay time in the shuttle box was recorded. The results were analyzed SPSS 22 software, ANOVA and Tokay tests. The significance of the data difference was considered at the $p \leq 0.05$ levels.

Results: The results of the data analysis showed that doses of 50 and 100 mg/kg flavonoid extracts of chamomile plant caused significant changes in the duration of the delay in entering the dark section at $p \leq 0.001$ compared to the control group. And finally, it improves the avoidance memory in rats, which does this effect probably due to the presence of compounds such as quercetin and phytoestrogens. Also, oxidative stress parameters were significantly reduced in Alzheimer's groups treated with chamomile flavonoids. ($P < 0.001$) Plant flavonoids are able to restore spatial memory function and oxidative stress parameters in groups treated with streptozotocin to normal levels.

Conclusion: Plant flavonoids can be used as an active biological substance to reduce memory and learning disorders in Alzheimer's samples, however, clinical studies are needed to prove the issue.

Article info

* Corresponding Author's email:
pourrabie@gmail.com

Received: 21 November 2024

Reviewed: 27 December 2024

Revised: 7 March 2025

Accepted: 10 April 2025

مقاله علمی - پژوهشی

بررسی اثر فلاونوئیدهای گیاه بابونه (*Matricaria recutita*) بر روی اختلالات حافظه و تعیین میزان استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی نر آلزایمری شده با داروی استرپتوزوتوسین

سیدرضا پورربی*

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد مرند، دانشگاه آزاد اسلامی، مرند، ایران

کلمات کلیدی

چکیده

آلزایمر
فلاونوئید
یادگیری
استرس اکسیداتیو
موش صحرایی

مقدمه: بیماری آلزایمر یکی از شایع‌ترین بیماری‌های از بین برنده نورونی است. پلاک‌های بتا آمیلوئیدی و کلاف‌های نوروفیبریلاری دو عامل مهم در بیماری آلزایمر هستند. تغییرات سلولی زیادی، نظیر استرس اکسیداتیو، التهاب نورونی، و اختلالات میتوکندریایی نیز در آلزایمر دیده می‌شوند که منجر به مرگ نورونی شوند. فلاونوئیدها مشتق شده از گیاه بابونه به‌خاطر تولید آنتی‌اکسیدان‌ها، دارای اثرات بسیار زیاد بر روی اختلالات ناشی از بیماری‌های مغزی نظیر بیماری آلزایمر می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه اثرات فلاونوئیدهای گیاهی بابونه بر روی اختلالات حافظه در موش‌های صحرایی آلزایمری شده مورد مطالعه قرار گرفت. بدین منظور از عصاره الکلی بابونه‌های جمع‌آوری شده و آنالیز کمی- کیفی مواد شیمیایی اسانس بابونه (GC/MS) جهت تهیه و تخلیص فلاونوئیدها مورد استفاده قرار گرفت. در این مطالعه از ۵۶ موش صحرایی نر بالغ که به ۷ گروه شامل کنترل، و هیکل ۱ (حلال فلاونوئیدها)، و هیکل ۲ (حلال داروی استرپتوزوتوسین)، آلزایمر، فلاونوئید ۱۲۰ میلی گرم بر گیلوگرم وزن بدن، فلاونوئید ۲۵۰ میلی گرم بر گیلوگرم وزن بدن و فلاونوئید ۴۰۰ میلی گرم بر گیلوگرم وزن بدن مورد استفاده قرار گرفت. القاء دیابت با تزریق تک دوز ۶۰ میلی گرم بر گیلوگرم وزن بدن داروی استرپتوزوتوسین به صورت درون صفاقی صورت گرفت. تجویز فلاونوئیدها تا ۱۵ روز انجام و برای سنجش میزان حافظه و یادگیری از دستگاه شاتل باکس استفاده شد و مدت زمان تاخیر در ورود شاتل باکس ثبت شد. نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۲۲ و به کمک آزمون‌های ANOVA و توکی آنالیز شدند. معنی‌داری اختلاف داده‌ها در سطح ($P < 0/05$) در نظر گرفته شد.

نتایج: نتایج حاصل از آنالیز داده‌ها نشان داد دوزهای ۲۵۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر گیلوگرم وزن بدن عصاره فلاونوئیدهای گیاه بابونه باعث افزایش معنی‌دار در مدت زمان تاخیر در ورود به بخش تاریک در سطح $P < 0/001$ نسبت به گروه کنترل شد. نهایتاً باعث بهبود حافظه اجتنابی در موش‌های صحرایی می‌شود که این اثر را احتمالاً به دلیل داشتن ترکیباتی نظیر کوئرستین و فیتواستروژنیک انجام می‌دهد. هم‌چنین پارامترهای استرس اکسیداتیو در گروه‌های آلزایمری تیمار شده با فلاونوئیدهای گیاه بابونه کاهش معنی‌داری یافت ($P < 0/001$). فلاونوئیدهای گیاهی قادر به بازگرداندن عملکرد حافظه فضایی و مقدار پارامترهای استرس اکسیداتیو گروه‌های تحت تیمار با داروی استرپتوزوتوسین به سطح طبیعی است.

بحث و نتیجه‌گیری: فلاونوئیدهای گیاهی را می‌توان به عنوان یک ماده زیستی فعال برای کاهش اختلالات حافظه و یادگیری در نمونه‌های آلزایمری استفاده نمود، به هر حال جهت اثبات موضوع نیاز به مطالعات بالینی می‌باشد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول:
pourrabie@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱ آذر ۱۴۰۳

تاریخ داوری: ۷ دی ۱۴۰۳

تاریخ اصلاح: ۱۷ اسفند ۱۴۰۳

تاریخ پذیرش: ۲۱ فروردین ۱۴۰۴

مقدمه

یادگیری و حافظه از مهم‌ترین سطوح عملکردی اعصاب مرکزی به‌شمار می‌رود و فرایندی است که با برقراری ارتباط حیوان با دنیای اطراف خود می‌شود. حافظه در اصل مکانیسمی برای کدبندی، ذخیره سازی و فراخوانی دوباره اطلاعات یاد گرفته شده است (۱). بیماری آلزایمر شایع‌ترین حالت نوروپاتولوژیک در بین بیماران مبتلا به زوال عقل است (۲). در این بیماری اختلالات زیادی از قبیل اختلالات گویائی (۳)، اختلالات بینائی فضائی (۴) و ناتوانی‌های حسی و حرکتی (۵) دیده می‌شود. این بیماری در نتیجه تجمع و افزایش پروتئین بتا آمیلوئید به‌وجود می‌آید که نهایتاً تولید پلاک‌های مغزی و دیستروپی سلول‌های عصبی در مناطق انتهائی نئوکورتیکال و دیگر مناطق مغزی می‌باشد (۶). استرس اکسیداتیو یک عامل تخریب عصبی است و نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که در مراحل اولیه پاتوژن اختلالات نورودژنراتیو مختلف نیز نقش دارد. به‌طور کلی، تمام مولکول‌های زیستی سلول می‌توانند اکسید شوند و در نتیجه آسیب ببینند. در بسیاری از موارد، از بین بردن مستقیم رادیکال‌های آزاد به‌عنوان یک استراتژی برای جلوگیری از آسیب استرس اکسیداتیو می‌باشد. رادیکال‌های آزاد با تخریب بافت مغز باعث ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن می‌شوند و عمل میانجی‌های نورونی را مختل می‌کنند، در نتیجه از عوامل اصلی در آلزایمر و تخریب نورونی هستند. مغز برای خنثی کردن رادیکال‌های آزاد به‌آنتی‌اکسیدان نیازمند است و هم‌چنین آمیلوئید بتا به‌واسطه ایجاد استرس اکسیداتیو باعث افزایش آپوپتوز نورون‌ها می‌شود (۷، ۸، ۹). تحقیقات بالینی نشان می‌دهد که استرس اکسیداتیو به‌عنوان عدم تعادل بین اکسیدان‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها در درون سلول می‌باشد که باعث افزایش سطح اکسیدان می‌شود. استرس اکسیداتیو به‌خوبی به‌عنوان یکی از نشانگرهای بالینی AD شناخته شده است، گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و پروتئین بتا‌آمیلوئید واسطه‌های اصلی استرس اکسیداتیو هستند. افزایش سطح گلیکاسیون غیرآنزیمی پروتئین‌های سلولی، لیپوپروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک ناشی از افزایش سطح گلوکز می‌باشد که این محصولات به‌عنوان محصولات نهایی گلیکاسیون پیشرفته شناخته می‌شوند که منجر به آسیب اکسیداتیو به‌عروق، افزایش سطح پروتئین بتا‌آمیلوئید و اختلالات حافظه می‌شود (۱۱، ۱۲). استرس اکسیداتیو در پاتوفیزیولوژی زوال عقل در میان دیگر اختلالات عصبی وابسته به سن نقش دارد (۲). یکی از عواملی که در پاتوژن بیماری آلزایمر نقش مؤثری بازی می‌کند، استرس اکسیداتیو بوده که یک عدم تعادل بین رادیکال‌های آزاد و سیستم آنتی‌اکسیدان است (۹). رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌توانند به پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و غشاهای چربی حمله کنند و در

نتیجه تمامیت و عملکرد سلول را مختل نمایند (۸). بافت مغز حاوی مقدار زیادی اسیدهای چرب اشباع نشده است که به‌ویژه نسبت به حملات رادیکال‌های آزاد آسیب‌پذیر هستند. تصور می‌شود پراکسیداسیون لیپیدی به‌صورت برجسته و به‌ویژه فرم مخرب آسیب اکسیداتیو نورونی است که به غشا آسیب‌رسانده و چندین محصول ثانویه مختلف تولید می‌کند و هر دو فرم شکافته شده و حلقه‌ای شده اسیدهای چرب اکسیژنه شده دارای اثرات نوروتوکسیک هستند (۱۰، ۱۱، ۱۲). استرس اکسیداتیو اختلاف بین میزان تولید رادیکال آزاد و حذف از طریق مکانیسم آنتی‌اکسیدانی درون‌زا است که در این میان می‌توان به آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز و کاتالاز، هم‌چنین گلوکاتایون و آسکوربات اشاره کرد (۸). افزایش سطح مالون‌دی‌آلدید به‌عنوان یکی از گونه‌های واکنشی اکسیداتیو یک شاخص معتبر پراکسیداسیون لیپیدی نشان داده شده است (۹، ۱۰). اختلال در یادگیری و حافظه می‌تواند به‌صورت شیمیایی با تزریق درون صفاقی داروی استرپتوزوتوسین و دیابتی کردن آن‌ها در حیوانات آزمایشگاهی القاء شود. به‌طوری‌که استرپتوزوتوسین با دوز ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن باعث افزایش معنی‌دار میزان گلوکز در موش‌های صحرایی دریافت‌کننده آن نسبت به گروه نرمال می‌شود. استرپتوزوتوسین با تخریب غشاء سلول‌های بتای پانکراس، قطعه قطعه نمودن DNA و واکنش با آنزیم‌هایی مانند گلوکوکیناز موجب افزایش میزان گلوکز خون در حیوانات می‌گردد. استرپتوزوتوسین بیان mRNA مربوط به آنزیم گلوکز-۶-فسفاتاز کبدی را افزایش داده و لذا از این طریق نیز موجب افزایش گلوکز خون می‌شود (۱۳). هم‌چنین دیابت با ایجاد رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو منجر به اکسیداسیون لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA می‌شود، متعاقباً آسیب‌گسترده‌ای را در سلول‌های مغزی ایجاد کرده که اختلالات حافظه و یادگیری جزء آن‌ها می‌باشد. تجمع آمیلوئید بتا نقش کلیدی در بیماری‌زایی آلزایمر دارد، اگرچه استرس اکسیداتیو نقش مهمی داشته و به‌طور وسیعی در آلزایمر ایجاد می‌شود. پپتیدهای آمیلوئید بتا به‌طور مستقیم و غیرمستقیم موجب ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شوند. آمیلوئید بتا می‌تواند به‌صورت آنزیم عمل کرده و پراکسید هیدروژن تولید کند و از طریق احیاء آهن، رادیکال‌های آزاد بسازد. علاوه بر این، با اتصال به پروتئین‌های میتوکندریایی در تولید رادیکال آزاد نقش دارد و موجب القای التهاب نورونی شده و از این طریق در بروز استرس اکسیداتیو نیز نقش بازی می‌کند (۱۲، ۱۴، ۱۵). مطالعات بسیاری نقش التهاب نورونی در بیماری‌زایی آلزایمر را بررسی کرده‌اند. به‌نظر می‌رسد که افزایش فعالیت میکروگلیاها و آستروسیت‌ها و افزایش میزان سیتوکین‌ها ارتباط مستقیمی با پلاک‌های پیری در بیماران مبتلا به آلزایمر دارد. با وجود این که میکروگلیا توانایی فاگوسیت دارد اما به‌دلیل حضور

استرپتوزوتوسین طراحی و تست‌های رفتاری به‌وسیله دستگاه شاتل باکس انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی از ۵۶ سر موش سفید بزرگ نر نژاد ویستار (انستیتو پاستور، سرم‌سازی مرنده) در میانگین وزنی ۲۵۰ گرم استفاده شد. تمام حیوانات در دمای ۲۱ تا ۲۳ درجه سانتی‌گراد در گروه‌های هشت تایی در قفس‌ها قرار داده شدند. حیوانات آزادانه به آب و غذای مخصوص موش به مدت شش هفته دسترسی داشتند. در این تحقیق موش‌های صحرایی نر بالغ که به ۷ گروه شامل کنترل، گروه وهیکل ۱ (حلال فلاونوئیدها)، وهیکل ۲ (حلال داروی استرپتوزوتوسین)، آلزایمر، فلاونوئید ۱۲۰ میلی گرم بر گیلوگرم وزن بدن، فلاونوئید ۲۵۰ میلی گرم بر گیلوگرم وزن بدن و فلاونوئید ۴۰۰ میلی گرم بر گیلوگرم وزن بدن مورد استفاده قرار گرفت.

روش تهیه عصاره هیدروالکلی بابونه: ابتدا گیاه بابونه از مناطق مختلف شهرستان مرنده جمع‌آوری و به‌وسیله متخصصین گیاه‌شناسی مورد تایید قرار گرفتند. سپس گیاه فوق در سایه خشک و عصاره‌های هیدروالکلی (اتانل ۷۰ درصد و آب ۳۰ درصد) آن‌ها به روش خیساندن (ماسراسیون) به مدت ۴۸ ساعت در دو نوبت تهیه و با استفاده از دستگاه تبخیرکتنده چرخان در دمای پایین به پودر عصاره تبدیل شد (۳۱). عصاره گیاه بابونه سرشار از فلاونوئیدها، بعد از رقیق‌سازی با آب استریل دو بار تقطیر شده، ۷ روز پس از تزریق استرپتوزوتوسین به مدت ۲ هفته به صورت داخل صفاقی و روزانه تزریق گردید. برای دیابتی کردن موش‌ها، از داروی استرپتوزوتوسین (سیگما، آمریکا) به صورت تک دوز ۶۰ میلی گرم بر گیلوگرم وزن بدن، داخل صفاقی و محلول در نرمال سالین سرد استفاده شد. یک هفته پس از تزریق، برای اطمینان از دیابتی بودن حیوانات، قند خون آن‌ها اندازه‌گیری گردید، فقط حیوانات دیابتی با میزان قند خون بالاتر از ۲۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر به مراحل بعدی راه یافتند، البته در روزهای بعد، علائم بارز پرخوری، پرنوشتی، دیورز و کاهش وزن نیز در موش‌ها به تدریج دیده شد. درضمن، کاهش وزن در پایان کار در تمامی موش‌ها مشاهده گردید. وزن حیوانات قبل از شروع آزمایشات و هم‌چنین در طی هفته‌های سوم و ششم حین آزمایشات نیز تعیین گردید، هم‌چنین اندازه‌گیری میزان گلوکز سرمی توسط روش آنزیمی گلوکز اکسیداز (شرکت زیست شیمی، تهران) با استفاده از اسپکتروفتومتر انجام شد. برای سنجش میزان حافظه و یادگیری از دستگاه شاتل باکس استفاده شد و مدت زمان تاخیر در ورود شاتل باکس ثبت شد. ۴ ساعت بعد از آخرین تست رفتاری با آزمون احترازی غیرفعال، رت‌ها با پنبه آغشته

سیتوکین‌های التهابی و پروتیین‌های ماتریکس خارج سلولی، عادر به فاگوسیت آمیلوئید بتا نمی‌باشد (۱۵، ۱۶). تحقیقات اخیر نتایج امیدوارکننده‌ای از اثر داروهای گیاهی با خواص آنتی‌اکسیدانی در درمان یا پیشگیری بیماری‌های مختلف از جمله مشکلات حافظه (۱۷، ۱۸، ۲۱، ۲۲)، سکنه‌های مغزی (۱۷، ۱۹، ۲۰)، مشکلات گوارشی (۲۳)، دیابت (۹، ۲۴)، قلبی-عروقی (۲۵)، سرطان (۲۶، ۲۷، ۲۸) و بسیاری دیگر از مشکلات از خود نشان داده‌اند. این اثرات اگرچه می‌تواند مربوط به مواد اختصاصی آن‌ها باشد ولی اکثراً به خواص آنتی‌اکسیدانی آن‌ها ارتباط داده شده‌اند. بابونه از گیاهان گلدار چند ساله است که در مناطق گسترده از جمله اروپا، آسیا و آفریقا رشد می‌کند و دارای خواص آنتی‌اکسیدانی است. بابونه گیاهی است دارای بویی معطر که در چمنزارها و زمین‌های شنی می‌روید و در حال حاضر در طب سنتی ایران به عنوان تسکین‌دهنده درد و تب و یک عامل ضد اسپاسم مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۹). منشأ اصلی بابونه در نواحی مختلف مدیترانه بوده ولی امروزه در تمام جهان انتشار پیدا نموده است. قسمت مورد استفاده درمانی بابونه فقط کاپیتول‌های آن بوده که وقتی رسیده یا باز هستند جمع‌آوری می‌شوند. اثرات ضد دردی و ضد تشنجی این گیاه نیز به خواص آنتی‌اکسیدانی و فلاونوئیدهای موجود در گیاه نسبت داده شده است (۳۰، ۳۱). تاکنون بیش از ۶۰۰۰ نوع فلاونوئید شناخته شده است که به ۶ زیرگروه: ۱-فلاونول‌ها (Flavonols)، ۲-فلاوانول‌ها (Flavanols)، ۳-ایزوفلاون‌ها (Isoflavones)، ۴-آنتوسیانیدین‌ها (Anthocyanidins)، ۵-فلاون‌ها (Flavanones) و ۶-فلاوانون‌ها (Flavones) تقسیم می‌شوند (۳۱). پلیفنول‌ها به دلیل توانایی شان در تعدیل رویدادهای سلولی نظیر تشکیل تانگل‌های نورونی و پلاک‌های بتا آمیلوئیدی به عنوان ترکیبات محافظت‌کننده نورونی مورد توجه قرار گرفته‌اند. از فراوان‌ترین پلیفنول‌ها، فلاونوئیدها می‌باشند که به‌وفور در مواد غذایی وجود دارند. بررسی‌های اپیدمیولوژیک، میدانی و تجربی پیشنهاد می‌کنند که رژیم غذایی غنی از فلاونوئید، عملکرد شناختی را بهبود داده و مانع از تحلیل نورونی در انسان می‌شود. براساس شواهد به دست آمده از بررسی‌های حیوانی و مدل‌های سلولی، فلاوانون‌هایی از قبیل نارنجین (Naringenin) کم‌ترین اثرات و فلاونول‌ها از قبیل کوئرستین (Quercetin)، کامپفرول (Kaempferol) و میرستین (Myricetin) قوی‌ترین اثرات ضدالتهابی را دارند (۳۰، ۳۱). عمده‌ترین ترکیب از زیرگروه فلاونول، کوئرستین است که ۶۰ تا ۷۵ درصد از فلاونوئیدهای رژیم غذایی را شامل می‌شود. این ترکیب در پیاز، تره‌فرنگی، کلم بروکلی، سیب و بابونه وجود دارد. این مطالعه با هدف بررسی اثر درمانی عصاره الکلی گیاه بابونه (فلاونوئیدهای گیاهی) بر اختلالات حافظه، یادگیری و تعیین میزان استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی نر آلزایمری شده تحت تاثیر داروی

استفاده قرار گرفت، عصاره گیاه بابونه سرشار از فلاونوئیدها، هفت روز پس از تزریق استرپتوزوتوسین به مدت ۵ هفته به صورت داخل صفاقی و روزانه تزریق گردید.

مطالعات آماری: داده‌های به دست آمده در نرم افزار SPSS تجزیه و تحلیل آماری شد. از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه برای مقایسه اثرات دوزهای مختلف هر دارو با گروه مربوطه و از آزمون آنالیز واریانس دو طرفه برای بررسی اثرات برهم کنش بین داروها استفاده شد. بعد از معنی دار بودن تفاوت‌ها، برای مقایسه تفاوت گروه‌های آزمایشی از پس آزمون توکی استفاده شد $P < 0/05$ به عنوان تفاوت معنی دار گروه‌ها مورد ملاک قرار گرفت. رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel ۲۰۲۱ صورت گرفت.

نتایج

نتایج تزریق داروی استرپتوزوتوسین: میزان گلوکز سرم، در گروه‌های تیمار شده با داروی استرپتوزوتوسین (۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی) در هفته‌های اول و دوم تفاوت معنی داری $P < 0/05$ را نسبت به گروه‌های کنترل و حامل‌ها نشان داد (شکل ۱- الف). نتایج اخذ شده نشان داد، میانگین سطح قند خون در گروه‌های کنترل و وهیکل که به عنوان گروه‌های حلال می‌باشند در سطح پائین ۱۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر قرار داشت. در صورتی که میزان قند خون در گروه تیمار شده با داروی استرپتوزوتوسین در محدوده ۲۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر رسید که نشان دهنده دیابتی شدن حیوان بود. قبل از انجام آزمایش تمامی موش‌ها با استفاده از دستگاه گلوکومتر Accu-check مدل Active ساخت کارخانه Roche آلمان و با اخذ یک قطره خون از دم، گلوکز خون آن‌ها اندازه‌گیری شد. این کار پس از دیابتی کردن موش‌ها تا سه روز و پس از آن در پایان هر هفته با رعایت ۸ ساعت محرومیت از غذا انجام و گلوکز خون ثبت می‌شد. هم چنین جهت اطمینان، نمونه‌های خون ۱۵ دقیقه پس از خونگیری با ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۶ دقیقه سانتریفیوژ شده و میزان گلوکز سرم به روش آنزیمی-رنگ سنجی روش گلوکز اکسیداز-پراکسیداز توسط دستگاه اتو آنالیزور مدل RA۱۰۰۰ ساخت شرکت تیچینکو آمریکا و کیت شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی Tukey بررسی شدند. نتایج به صورت میانگین $\pm$ خطای معیار ارائه گردید. معیار استنتاج آماری $P < 0/05$ در نظر گرفته شد. هم چنین نتایج آزمون احترازی غیرفعال STL1 و STL2 گروه‌های کنترل، حامل‌ها تغییرات معنی داری را نسبت به گروه دریافت کننده داروی استرپتوزوتوسین نشان می‌دهد. تک تک هیستوگرام‌ها نشان دهنده میانگین $\pm$ انحراف

به اتر بی‌هوش و سر آن‌ها توسط گیوتین جدا و بر روی تخته یخ بسته قرار داده شد. هیپوکامپ از مغز جدا شده و بلافاصله در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری گردید. هموژن بافتی با استفاده از هموژنایزر مکانیکی تهیه شد. بعد از سانتریفیوژ کردن در دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، محلول شفاف رویی از رسوب زیرین جدا شده و برای آنالیزهای بیوشیمیایی مورد استفاده قرار گرفت (۳۱).

تعیین ترکیبات فنلی: برای اندازه‌گیری ترکیبات فنلی به ۰/۱ میلی لیتر از عصاره رقیق شده (۰/۰۱ گرم در ۱۰ میلی لیتر متانول ۶۰ درجه) ۰/۵ میلی لیتر از محلول فولین سیوکالتیو اضافه گردید و پس از ۳ تا ۵ دقیقه مقدار ۴/۰ میلی لیتر از کربنات سدیم ۷۵٪ اضافه شد. پس از ۳۰ دقیقه آنکوباسیون در دمای اتاق جذب نمونه‌ها در مقابل بلانک آب مقطر قرائت گردید. هم‌زمان با انجام آزمایش رقت‌های مختلف اسید گالیک تهیه و مانند روش فوق آزمایش و منحنی استاندارد تهیه شد. جذب نمونه‌ها با منحنی استاندارد مقایسه و مقدار فنل تام هر عصاره بر حسب میلی گرم در هر گرم عصاره خشک محاسبه گردید (۳۲، ۳۵).

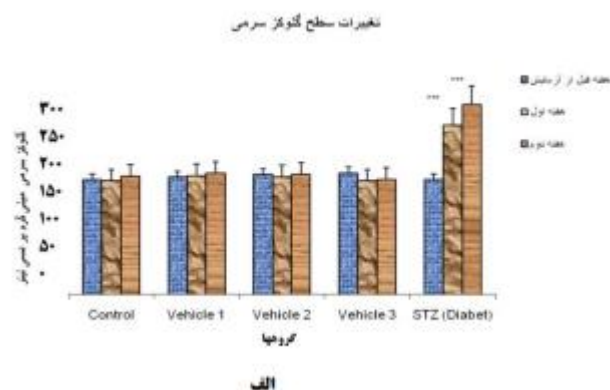
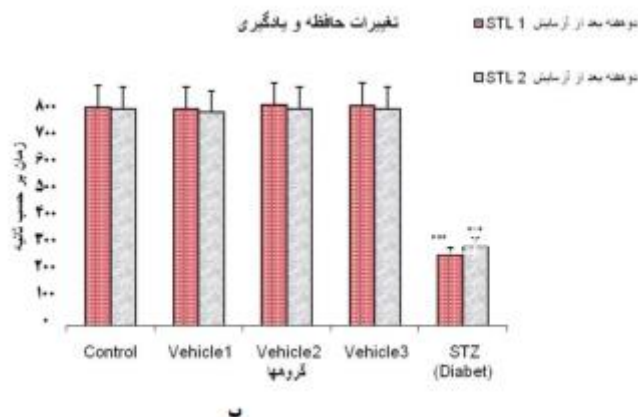
تعیین ترکیبات فلاونوئید: برای اندازه‌گیری ترکیبات فلاونوئید به طور خلاصه ۰/۵ میلی لیتر از محلول هر عصاره (۰/۰۱ گرم در ۱۰ میلی لیتر متانول ۶۰ درجه) ۰/۵ میلی لیتر کلرید آلومینیوم ۲٪ مخلوط و مقدار ۳ میلی لیتر استات پتاسیم ۵٪ به آن‌ها اضافه گردید. پس از ۴۰ دقیقه جذب نمونه‌ها در مقابل آب مقطر در طول موج ۴۱۵ نانومتر قرائت گردید. هم‌زمان با انجام آزمایش رقت‌های مختلف روتین تهیه و مانند روش فوق آزمایش و منحنی استاندارد تهیه گردید. جذب نمونه‌ها با منحنی استاندارد مقایسه و مقدار فلاونوئید هر عصاره بر حسب میلی گرم در هر گرم عصاره خشک محاسبه گردید (۳۳).

تعیین ترکیبات فلاونولی: جهت اندازه‌گیری ترکیبات فلاونولی ۰/۵ میلی لیتر از محلول هر عصاره (۰/۰۱ گرم در ۱۰ میلی لیتر متانول ۶۰ درجه) ۰/۵ میلی لیتر کلرید آلومینیوم ۲٪ مخلوط و مقدار ۳ میلی لیتر استات سدیم ۵٪ به آن‌ها اضافه گردید. پس از ۲/۵ ساعت جذب نمونه‌ها در مقابل آب مقطر در طول موج ۴۴۰ نانومتر قرائت گردید. هم‌زمان با انجام آزمایش رقت‌های مختلف روتین تهیه و مانند روش فوق آزمایش و منحنی استاندارد تهیه گردید. جذب نمونه‌ها با منحنی استاندارد مقایسه و مقدار فلاونول هر عصاره بر حسب میلی گرم در هر گرم عصاره خشک محاسبه گردید (۳۴، ۳۶، ۳۷).

مواد لازم: داروهای مورد استفاده در این پژوهش عبارت بودند از: داروی استرپتوزوتوسین (سیگما، آمریکا) و به میزان ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن در آب سرد حل و به صورت درون صفاقی مورد

کنترل می‌باشند (شکل ۱-ب).

معیار (mean±SD) از زمان STLs می‌باشد. تعداد موش‌های صحرایی در هر گروه ۸ عدد و تغییرات $P < 0.01$ معنی‌دار در مقایسه با گروه



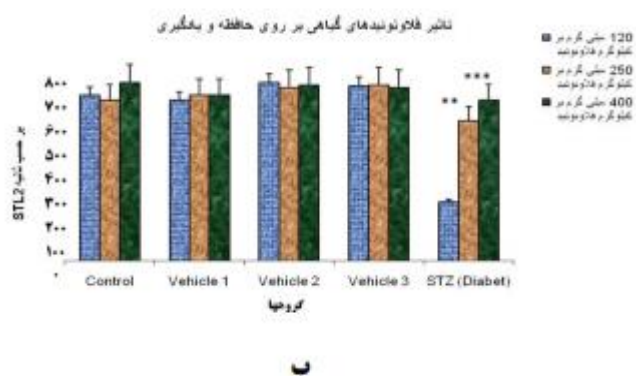
شکل ۱: الف- تغییرات سطح گلوکز سرمی در هفته‌های اول و دوم آزمایشات پس از تزریق داروی استرپتوزوتوسین نسبت به موش‌های صحرایی کنترل و حامل‌ها $P < 0.005$ *** ب- نتایج آزمون احترازی غیرفعال STL1 (حافظه کوتاه مدت) و STL2 (حافظه بلندمدت) گروه‌های کنترل، حامل‌ها و گروه دریافت‌کننده داروی استرپتوزوتوسین تک تک هیستوگرام‌ها نشان‌دهنده میانگین $\pm$ انحراف معیار (mean±SD) از زمان STLs می‌باشد. تعداد موش‌های صحرایی در هر گروه ۸ عدد و تغییرات $P < 0.01$ معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که دیابت، سبب تخریب فرآیندهای یادگیری و حافظه می‌شود زیرا میانگین مدت زمان STL1,2 در این گروه به صورت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل کاهش پیدا می‌کند که نشان‌دهنده عملکرد ضعیف و کاهش یادگیری در موش‌های دیابتی است. نقص در اعمال شناختی در حیوانات دیابتی شده توسط STZ ممکن است ناشی از تغییرات سطح گلوکز یا هیپرگلیسمی نوروتوکسیک در ارتباط با نوروترانسمیتر استیل کولین باشد.

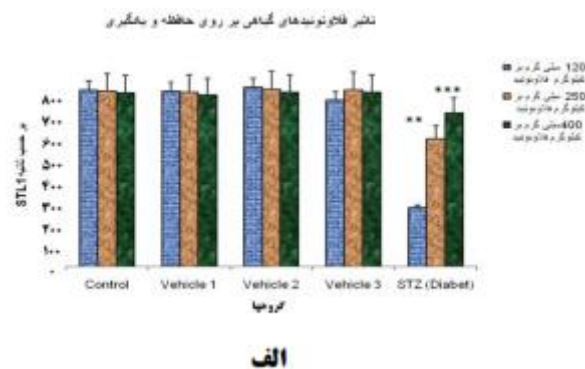
نتایج تزریق عصاره هیدروالکلی بابونه: با توجه به نتایج مطالعات آماری موجود در شکل ۲ بیان می‌کند که تاثیر فلاونوئیدهای گیاهی با دوزهای مختلف، هیچ‌گونه تغییرات معنی‌دار، در گروه‌های کنترل، حلال شماره ۱ (حلال آبی فلاونوئید)، حلال شماره ۲ (حلال اتانولی فلاونوئید) و حلال شماره ۳ (حلال داروی استرپتوزوتوسین) نسبت به گروه کنترل مشاهده نمی‌شود، این موضوع بیان می‌کند که حلال ماده موثره عصاره بابونه قادر به افزایش میانگین زمان حافظه کوتاه و بلندمدت نیست و تنها ماده موثره عصاره بابونه قادر به افزایش زمان STL1,2 می‌باشد. هم‌چنین شکل ۱ و ۲ نشان می‌دهد، هیچ‌گونه تاثیر مواد آزمایشگاهی بر روی گروه کنترل، انجام نشده و این گروه تنها برای مقایسه گروه‌های دیگر در راستای مطالعه تاثیر عصاره هیدروالکلی گیاه بابونه در نظر گرفته شده است در این گروه میزان عملکرد حافظه کوتاه‌مدت (STL1) و حافظه بلندمدت (STL2) مقادیر بالایی را نشان می‌دهد. نتایج آماری مربوط به تاثیر فلاونوئیدهای گیاهی با دوز ۱۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن بر روی گروه دیابتی

نشان می‌دهد که عملکرد حافظه کوتاه و بلندمدت نسبت به گروه دیابتی تغییرات معنی‌داری پیدا نکرده است و بیانگر این موضوع هست که عملکرد حافظه کوتاه مدت و بلند مدت گروه‌های دیابتی با تاثیر فلاونوئیدهای گیاهی با دوز ۱۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن افزایش پیدا نمی‌کند و اختلالات حافظه و یادگیری همانند گروه دیابتی باقی می‌ماند. نتایج آماری مربوط به تاثیر فلاونوئیدهای گیاهی با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن بر روی گروه دیابتی نشان می‌دهد که عملکرد حافظه کوتاه و بلند مدت نسبت به گروه دیابتی تغییرات معنی‌دار $P \leq 0.01$ کرده است و بیانگر این هست که اثرات تخریبی هیپرگلیسمی که در عملکرد شناختی و حافظه و یادگیری نمونه‌های مورد آزمایش به جای گذاشته است با تاثیر عصاره موثر بابونه با دوز ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت معنی‌دار در محدوده $P \leq 0.01$ تغییر پیدا می‌کند و تظاهرات حافظه و یادگیری در این گروه نسبت به گروه دیابتی بهبود می‌یابد. با بررسی نتایج آماری مربوط به گروه دیابتی تیمار شده با عصاره موثر بابونه ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن نشان می‌دهد که عملکرد حافظه کوتاه و بلندمدت نسبت به گروه دیابتی تغییر معنی‌دار $P \leq 0.01$ کرده است به‌طوری که اثرات تخریبی هیپرگلیسمی که در قسمت‌های مختلف مغز به جای گذاشته است و عملکردهای شناختی، حافظه و یادگیری را تحت تاثیر قرار داده است، با تاثیر عصاره موثر بابونه با دوز ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت معنی‌دار در محدوده $P \leq 0.01$ افزایش پیدا می‌کند و علائم بالینی مربوط به اختلالات حافظه و یادگیری در

اکسیداتیواست (۳۹، ۴۰، ۴۴). پلی فنول ها به دلیل توانایی شان در تعدیل این رویدادهای سلولی به عنوان ترکیبات محافظت کننده نورونی مورد توجه قرار گرفته اند.



این گروه از بین رفته و حافظه کوتاه مدت و بلندمدت همانند گروه کنترل بیان می شود (شکل ۲ الف و ب). یکی از رویدادهای سلولی و مولکولی که در بیماری آلزایمر موجب تحلیل عصبی می شود، استرس



شکل ۲: تاثیر مصرف عصاره هیدروالکلی گیاه بابونه در گروه های کنترل، دیابتی و حلال های مواد بر روی میزان عملکرد. الف: حافظه کوتاه مدت (STL1). ب: حافظه بلندمدت (STL2) در آزمون یادگیری احترازی غیرفعال

داده ها به شکل $SEM \pm Mean$ و $n=8$ حیوان در هر گروه می باشد. *** $P \leq 0.001$, ** $P \leq 0.01$ در مقایسه با گروه دیابتی Cut of time = 900s

جدول ۱: فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه بابونه با بوتیلید هیدروکسی تولون به عنوان کنترل مثبت در روش DPPH داده ها به صورت میانگین گرم های غلظتی می باشند

نمونه	غلظت بر حسب $\mu g/ml$	درصد مهار رادیکالی DPPH (IC50%)
عصاره بابونه	۱۰	۵/۸
	۱۵	۱۸
	۲۰	۲۲/۵
	۲۵	۲۷/۵
	۳۰	۳۲/۴
	۴۰	۴۱/۲۹
	۵۰	۴۹/۲ IC50
	۶۰	۵۶/۹
بوتیلین هیدروکسی تولون	۷۰	۶۳/۵
	۸۰	۷۴/۸
	۲۰	۸/۸
	۵۰	۱۴/۴
	۱۰۰	۳۰/۷ IC50
	۲۵۰	۶۸/۲
	۵۰۰	۷۹/۳
	۷۰۰	۹۵/۳

بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی با آزمون DPPH (۲ و ۲ دی فنیل - ۱ پیکریل هیدرازیل): در این روش برای ترکیب رادیکالی پایدار از DPPH به عنوان معرف استفاده شد. بدین ترتیب که ۵۰

تاثیر آنتی اکسیدانی عصاره هیدروالکلی بابونه: از فراوان ترین پلی فنول ها، فلاونوئیدها می باشند که به عصاره هیدروالکلی بابونه وجود دارند. بررسی های اپیدمیولوژیک، مشاهده ای و تجربی پیشنهاد می کنند که رژیم های غنی از فلاونوئید، عملکرد شناختی را بهبود داده و مانع از تحلیل رفتن شدید نورونی در موش های صحرانی نر بالغ آلزایمری شده می شود. استرس اکسیداتیو به عنوان عدم تعادل بین اکسیدان ها و آنتی اکسیدان ها می باشد و آسیب اکسیداتیو نتیجه این عملکرد است که شامل اکسیداتیو ماکرومولکول های سلول، مرگ سلولی نظیر آپوپتوز یا نکروز و تخریب بافتی است (۳۷). گستره وسیع و متفاوت فعالیت آنتی اکسیدانی در نوروپاتی ها اندازه گیری تک تک آن ها را مشکل می سازد و از طرفی به خاطر هم پوشانی فعالیت آنتی اکسیدان ها اندازه گیری جداگانه آن ها نمی تواند گویای عمل کرد کامل آن ها باشد. بنابراین اندازه گیری ظرفیت تام آنتی اکسیدانی محلول هموزن تهیه شده از سیستم لیمبیک گروه های مختلف از نمونه های تحت آزمایش پارامتر مناسبی برای ارزیابی وضعیت کل آنتی اکسیدانی عصاره بابونه می باشد (۳۸).

استانداردسازی عصاره اتانولی بابونه: میزان ترکیبات فنولی، فلاونولی و فلاونوئیدی در عصاره بابونه به ترتیب ۲۶/۵، ۷۸/۴ و ۴۷/۶ میلی گرم بر گرم خشک عصاره گیاه بابونه است. در ارتباط با فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه بابونه میزان IC50 (Half-maximal inhibitory concentration) برای فعالیت مهار رادیکالی برای عصاره گیاه بابونه در جدول ۱ بیان شده است.

میکرولیتر از غلظت‌های مختلف ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۰ و ۸۰ میکروگرم در سی‌سی عصاره‌ها در متانول به ۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۰۰۴ درصد DPPH در متانول اضافه گردید. بعد از ۳۰ دقیقه در دمای معمول اتاق جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر بر علیه بلانک قرائت شد. درصد مهار رادیکال‌های آزاد $I(\%) = 100 \times (A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}$ محاسبه گردید. در این فرمول Acontrol جذب نوری کنترل منفی را که فاقد عصاره می‌باشد نشان می‌دهد A sample میزان جذب نوری غلظت‌های مختلف عصاره را بیان می‌کند. پس از آن غلظتی از عصاره که دارای درصد مهار رادیکالی ۵۰ بود توسط نمودار محاسبه گردید. بدیهی است که هر چه این عدد کوچک‌تر باشد قدرت آنتی‌اکسیدانی یا مهار رادیکال‌های آزاد، بیش‌تر می‌باشد. در این آزمایش به عنوان کنترل مثبت آنتی‌اکسیدان سنتزی هیدروکسی تولون بوتیل شده استفاده گردید و کلیه آزمایش‌ها دو بار تکرار شدند (۳۹).

بحث

بیماری آلزایمر، بیماری نورودژنراتیوی است که به علت تخریب نورون‌های مناطق مختلف کورتکس مغزی، خصوصاً نورون‌های کولینرژیک بخش هیپوکامپ و کورتکس مغز جلوئی ایجاد می‌گردد (۴۲، ۴۳، ۴۴). بیماری مذکور با اختلالات حافظه و یادگیری از قبیل اختلال در یادآوری، اختلال در یادگیری- اختلال در حافظه کوتاه مدت و دراز مدت و... همراه است (۴۵، ۴۶). در این مطالعه بررسی عصاره هیدرو الکلی بابونه بر روی اختلالات حافظه یادگیری در موش‌های صحرایی دیابتی شده با داروی استرپتوزوتوسین بررسی شد که یکی از روش‌های معمول برای ایجاد بیماری آلزایمر می‌باشد (۴۷). داروی استرپتوزوتوسین، به عنوان داروی موثر در سیستم عصبی مرکزی و سیستم محیطی می‌باشد، به طوری که در ارتباط با سیستم محیطی برای از بین بردن تومورهای موجود در جزائر لانگهانس خصوصاً تومورهای مرتبط با سلول‌های بتا مورد استفاده قرار می‌گیرد (۴۶، ۵۰). از داروی استرپتوزوتوسین، برای اولین بار برای ایجاد مدل آزمایشی بیماری آلزایمر در جوندگان استفاده نمودند، به طوری که کاربرد فرآیند حافظه و یادگیری ظرف دو هفته دچار اختلال شد (۴۴، ۵۲، ۵۳). نتایج به دست آمده در این تحقیق نیز همین مسئله را تایید نمود. نتایج مطالعات در این زمینه نشان می‌دهد که داروی استرپتوزوتوسین با القاء نورو توكسيته باعث افزایش گلوکز خون و هم‌چنین باعث ایجاد مقاومت در برابر ورود گلوکز در مغز حیوان می‌شود (۴۸). بنابراین تزریق درون صفاقی داروی استرپتوزوتوسین باعث اختلال در گیرنده‌های انسولین مغزی می‌شود. در این راستا، اختلال در مصرف گلوکز، اختلال

در عملکرد میتوکندری‌ها، کاهش تولید ATP و در نهایت عدم تنظیم انرژی که به وسیله غیر حساس شدن گیرنده‌های انسولین مغزی مشاهده می‌شود که در بیماری آلزایمر زودرس نیز دیده می‌شود (۴۹). بنابراین کاهش سطح انسولین مغز، عامل اختلال در سطح گلوکز، استیل کولین، کلسترول و سطح ATP سلولی شده که باعث ایجاد اختلالاتی در فعالیت غشاء سلولی و عامل تجمع فرآیندهای آمیلوئید و نیتیک و هیپرفسفوریلاسیون پروتئین تائو می‌شود. با توجه به تحقیقات بیان شده، استفاده از داروی استرپتوزوتوسین با دوز پائین باعث ایجاد اختلال و آسیب به پیام‌های مربوط به گیرنده‌های انسولینی مغز شده که عامل ایجاد تیپ دوم دیابت ملیتوس می‌باشد، در صورتی که دوز بالای داروی استرپتوزوتوسین، باعث اختلال در ساختمان سلول‌های بتا جزائر لانگهانس شده که نهایتاً باعث کاهش تولید انسولین شده و بیماری تیپ اول دیابت ملیتوس را ایجاد می‌نماید (۴۷، ۴۹). داروی استرپتوزوتوسین در درون سلول‌های مغزی، رادیکال‌های آزاد، نیتریک اکسید و پراکسید هیدروژن را به وجود می‌آورد که عامل ایجاد تغییرات ساختاری، نورو شیمیایی و رفتاری است که در ارتباط با بیماری آلزایمر می‌باشد (۴۴، ۴۹، ۵۰). هم‌چنین نتایج آزمون احترازی غیر فعال حافظه کوتاه و بلند مدت گروه‌های کنترل، حامل‌ها تغییرات معنی داری را نسبت به گروه دریافت کننده داروی استرپتوزوتوسین نشان می‌دهد. نتایج حاصل از این مطالعه در شکل ۱-ب نشان می‌دهد که دیابت، سبب تخریب فرآیندهای یادگیری و حافظه می‌شود زیرا میانگین مدت زمان مربوط به حافظه کوتاه مدت و بلند مدت در این گروه به طور معنی دار نسبت به گروه کنترل کاهش پیدا می‌کند. نقص در اعمال شناختی در حیوانات دیابتی شده توسط STZ ممکن است ناشی از تغییرات سطح گلوکزی یا هیپرگلیسمی نورو توكسيك در ارتباط با نورون‌های کولینرژیک و میزان ترشح نوروترانسمیتر استیل کولین باشد. تجمع بتا آمیلوئید نقش مهمی در بیماری زایی آلزایمر دارد. اگرچه استرس اکسیداتیو نقش مهمی در ایجاد بیماری آلزایمر داشته و به طور وسیعی در این بیماری ایجاد می‌شود. پپتیدهای بتا آمیلوئید به طور مستقیم و غیرمستقیم موجب ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شوند. بتا آمیلوئید می‌تواند به صورت آنزیم عمل کرده و پراکسید هیدروژن را تولید نماید و از طریق احیاء آهن، رادیکال‌های آزاد را تولید نماید. علاوه بر این، با اتصال به پروتئین‌های میتوکندریایی در تولید رادیکال آزاد نقش دارد و موجب القای التهاب نورونی شده و از این طریق در بروز استرس اکسیداتیو نیز نقش بازی می‌کند. استرس اکسیداتیو منجر به تخریب غشای سلول، شکست DNA، اکسیداسیون پروتئین و در نهایت آپوپتوز می‌شود. آپوپتوز عمده ترین روش مرگ نورونی در آلزایمر است. بابونه با نام علمی *Matricaria chamomilla* یکی از گیاهان دارویی است که در نواحی گسترده‌ای

4. Gu, L., Chen, J. and Gao, L., 2019. Deficits in visual spatial working memory and executive function in single versus multiple-domain amnesic mild cognitive impairment: a combined ERP and sLORETA study. *Clin Neurophysiol.* 130: 739. doi: 10.1016/j.clinph.2019.01.025
5. Buchman, A.S. and Bennett, D.A., 2011. Loss of motor function in preclinical Alzheimer's disease. *Expert Rev Neurother.* 11: 665-676. <http://dx.doi.org/10.1586/ern.11.57>
6. Villemagne, V.L., Burnham, S. and Bourgeat, P., 2013. Amyloid β deposition, neurodegeneration, and cognitive decline in sporadic Alzheimer's disease: A prospective cohort study. *Lancet Neurol.* 12(4): 357-367. doi: 10.1016/S1474-4422(13)70044-9
7. Behl, C., 2005. Oxidative stress in Alzheimer's disease: Implications for prevention and therapy. *Subcell Biochem.* 38: 65-78. doi: 10.1007/0-387-23226-5-3
8. Nasri, H. and Rafieian-Kopaei, M., 2013. Oxidative stress and aging prevention. *Int J Prev Med.* 4(9): 1101-1102. doi: 10.12860/JNP.2013.26
9. Nasri, H. and Rafieian-Kopaei, M., 2014. Protective effects of herbal antioxidants on diabetic kidney disease. *J Res Med Sci.* 19(1): 82-83. doi: 10.12860/JNP.2013.26
10. Rafieian-Kopaei, M., Baradaran, A. and Rafieian, M., 2013. Plants antioxidants: From laboratory to clinic. *J Nephropathol.* 2(2): 152-153. doi: 10.12860/JNP.2013.26
11. Bassett, C.N. and Montine, T.J., 2003. Lipoproteins and lipid peroxidation in Alzheimer's disease. *J Nutr Health Aging.* 7(1): 24-29. PMID: 12679837
12. Liu, C., Liang, M.C. and Soong, T.W., 2019. Nitric Oxide, Iron and Neurodegeneration. *Front Neurosci.* 13: 114. doi.org/10.3389/fnins.2019.00114
13. Merzouk, H., Madani, S. and Chabane-Sari, D., 2000. Time course of changes in serum glucose, insulin, lipids and tissue lipase activities in macrosomic offspring of rats with streptozotocin-induced diabetes. *Clin Sci.* 98(1): 21-30. doi: 10.1042/cs0980021
14. Aslan, M. and Ozben, T., 2004. Reactive oxygen and nitrogen species in Alzheimer's disease. *Curr Alzheimer Res.* 1(2): 111-119. doi: org/10.2174/1567205043332162
15. ElAli, A. and Rivest, S., 2016. Microglia in Alzheimer's disease: a multifaceted relationship. *Brain Behav Immun.* 55: 138-150. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2015.07.021>
16. Calsolaro, V. and Edison, P., 2016. Neuro inflammation in Alzheimer's disease: current evidence and future directions. *Alzheimers Dement.* 12(6): 719-732. doi: 10.1016/j.jalz.2016.02.010
17. Rabiei, Z., Bigdeli, M.R. and Mohagheghi, F., 2012. 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(3): 245-254. (In Persian)
18. Rabiei, Z., Bigdeli, M.R. and Rasouljan, B., 2012. The effect of various doses of olive leaf extract on brain lipid levels and blood brain barrier permeability in rat stroke model. *Pajoohandeh.* 17(2): 67-72. (In Persian)
19. Rabiei, Z., Bigdeli, M.R. and Mohagheghi, F., 2013. Effect of dietary olive leaf extract on brain cholesterol, cholesterol ester and triglyceride levels and of brain edema in rat stroke model. *Razi J Med Sci.* 19(103): 18-25. (In Persian)
20. Rabiei, Z., Bigdeli, M.R. and Rasouljan, B., 2013. Neuroprotection of dietary virgin olive oil on brain

از جهان نظیر، افریقا، آسیا، امریکای شمالی و جنوبی، اروپا و استرالیا می‌روید (۵۵، ۵۶). هم‌چنین نشان داده شده که عصارهٔ بابونه حاوی مواد آنتی‌اکسیدان است (۵۷) و آنالیزهای آزمایشگاهی و سنجش‌های داروشناسی نشان داده که گل‌های بابونه محتوی اسانس‌های روغنی ترپنوئیدی (آزلن، کامازولن، اکسید بیسابولون، سزکوئی و ترپن‌های A, B, فلاونوئیدهای (آپی ژنین، کریزین، ولوتولین، کورستین، کومهارین‌ها (امبلی فرون، اسپیرواترها و مواد موسیلاژی، املاح، پلی ساکاریدها، تانن‌ها و اسیدهای چرب است (۵۸). آثار حفاظت نوروئی در به‌کارگیری عصاره گیاه بابونه در ایسکمی‌های مغزی در موش صحرایی گزارش شده است (۵۸، ۵۹). هم‌چنین مطالعات آزمایشگاهی استرس اکسیداتیو ناشی از تأثیر آلومینیوم فلوراید دیده می‌شود (۵۸). برخی مطالعات نشان داده‌اند که عصارهٔ بابونه به‌دلیل داشتن ترکیبات فیتواستروئیدی به‌عنوان آگونیست فیتواستروژن و پروژسترون عمل می‌کند (۵۹). به‌طوری‌که در موش‌های اوریکتومی شده، عصارهٔ گیاه بابونه باعث افزایش استرادیول‌ها در این سری از حیوانات می‌شوند (۵۹، ۶۰). با توجه به نتایج آماری مربوط به شکل ۲، تأثیر فلاونوئیدهای گیاهی با دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بر روی گروه دیابتی نشان می‌دهد که عملکرد حافظه کوتاه مدت و حافظه بلندمدت نسبت به گروه دیابتی تغییرات معنی‌داری پیدا کرده است و اثرات تخریبی هیپرگلیسمی که در عملکرد شناختی و حافظه و یادگیری نمونه‌های مورد آزمایش به‌جای گذاشته است با تأثیر عصاره بابونه بهبود یافته و تظاهرات حافظه و یادگیری در این گروه نسبت به گروه دیابتی افزایش می‌یابد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان می‌دهد، عصاره بابونه باعث بهبود حافظه کوتاه مدت و حافظه بلندمدت در موش‌های صحرایی می‌شود که این اثر را به‌خاطر داشتن ترکیبات فلاونوئیدی، آنتی‌اکسیدانی اعمال می‌نماید.

منابع

1. Sharifzadeh, M., Sharifzadeh, K. and Naghdi, N., 2005. Posttraining intrahippocampal infusion of a protein kinase AII inhibitor impairs spatial memory retention in rats. *J Neurosci Res.* 79(3): 392-400. doi: 10.1002/jnr.20358
2. Mackay, D.F., Russell, E.R. and Stewart, K., 2019. Neurodegenerative disease mortality among former professional soccer players. *N Engl J Med.* 381(19): 1801-1808. doi: 10.1056/NEJMoa1908483
3. Galluzzi, C.E., Bureca, I. and Guariglia, C., 2015. Phonological simplifications, apraxia of speech and the interaction between phonological and phonetic processing. *Neuropsychologia.* 71: 64-83. doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2015.03.007

- (*Camellia sinensis*) extract on post-laparotomy intra abdominal adhesion in rats. *Int J Surg*. 11(9): 811-815. doi: 10.1016/j.ijsu.2013.08.014
36. Asadi, S.Y., Parsaei, P. and Karimi, M., 2013. Effect of green tea (*Camellia sinensis*) extract on healing process of surgical wounds in rat. *Int J Surg*. 11(4): 332-337. <https://doi.org/10.1016/j.ijsu.2013.02.014>
 37. Mu, Y. and Gage, F.H., 2011. Adult hippocampal neurogenesis and its role in Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener*. 6(1): 1-9.
 38. Höglund, K. and Salter, H., 2013. Molecular biomarkers of neurodegeneration. *Expert Rev Mol Diagn*. 13(8): 845-861. doi: 10.1586/14737159.2013.850033
 39. Lykkesfeldt, J. and Svendsen, O., 2007. Oxidants and antioxidants in disease: oxidative stress in farm animals. *The Veterinary Journal*. 173(3): 502-511. doi: 10.1016/j.tvjl.2006.06.005
 40. Surai, P.F., Kochish, I.I. and Fisinin, V.I., 2019. Antioxidant defence systems and oxidative stress in poultry biology: An update. *Antioxidants*. 8: 235. doi: 10.3390/antiox8070235
 41. Sharafati Chaleshtori, R., Sharafati Chaleshtori, F. and Rafieian-kopaei, M., 2011. Biological characterization of Iranian walnut (*Juglans regia*) leaves. *Turk J Biol*. 35(5): 635-639. doi: 10.3906/biy-1005-1
 42. Villemagne, V.L., Burnham, S. and Bourgeat, P., 2013. Amyloid β deposition, neurodegeneration, and cognitive decline in sporadic Alzheimer's disease: A prospective cohort study. *Lancet Neurol*. 12(4): 357-367. doi: [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(13\)70044-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(13)70044-9)
 43. Schneider, J.A., Arvanitakis, Z. and Leurgans, S.E., 2009. The neuropathology of probable Alzheimer disease and mild cognitive impairment. *Ann Neurol*. 66(2): 200-208. <https://doi.org/10.1002/ana.21706>
 44. Agrawal, R., Tyagi, E. and Shukla, R., 2009. A Study of brain insulin receptors, AChE activity and oxidative stress in rat model of ICV STZ induced dementia. *Neuropharmacology*. 56: 779-787. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2009.01.005>
 45. Grünblatt, E., Koutsilieri, E. and Hoyer, S., 2006. Gene expression alterations in brain areas of intracerebroventricular streptozotocin treated rat. *J. Alzheimers Dis*. 9: 261-271.
 46. Szkudelski, T., 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res*. 50: 336-346. doi: 10.3233/JAD-2006-9305
 47. Soheilifar, M., 2021. Protective effect of hydroalcoholic extract of raspberry fruit (*Rubus fruticosus* L.) on the serum level of blood lipids in STZ-induced diabetic male rats. *Journal of Animal Environment*. 2: 61-66. doi: 10.22034/AEJ.2020.105980 (In Persian)
 48. Weinstock, M. and Shoham, S., 2004. Rat models of dementia based on reductions in regional glucose metabolism, cerebral blood flow and cytochrome oxidase activity. *J. Neural Transm*. 111: 347-366. doi: 10.1007/s00702-003-0058-y
 49. Lenzen, S., 2008. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*. 51: 216-226. doi: 10.1007/s00125-007-0886-7
 50. Rickels, M.R. and Robertson, R.P., 2019. Pancreatic Islet Transplantation in Humans: Recent Progress and Future Directions. *Endocr Rev*. 40: 631-668. doi: 10.1210/er.2018-00154
 51. Murai, N., Ohtaki, H. and Watanabe, J., 2017. Intrapancratic injection of human bone marrow-derived mesenchymal stem/stromal cells alleviates lipidomics during stroke. *Curr Neurovasc Res*. 10(3): 231-237. doi: 10.2174/15672026113109990007
 21. Rabiei, Z., Rafieian-kopaei, M. and Heidarian, E., 2014. Effects of *Zizyphus jujube* extract on memory and learning impairment induced by bilateral electric lesions of the nucleus Basalis of Meynert in rat. *Neurochem Res*. 39(2): 353-360. doi: 10.1007/s11064-013-1232-8
 22. Rabiei, Z., Rafieian-Kopaei, M. and Mokhtari, S., 2014. The effect of pretreatment with different doses of *Lavandula officinalis* ethanolic extract on memory, learning and nociception. *Biomed Aging Pathol*. 4(1): 71-76. doi: 10.1016/j.biomag.2013.10.006
 23. Sedighi, M., Nasri, H. and Rafieian-kopaei, M., 2013. Reversal effect of *Achillea millefolium* extract on ileum contractions. *J Herb Med Pharmacol*. 2(1): 5-8.
 24. Akbari, F., Ansari-Samani, R. and Karimi, A., 2013. Effect of turpin on glucose and lipid profiles of alloxan induced diabetic rats. *Iran J Endocrinol Metab*. 14(5): 492-497. (In Persian)
 25. Khosravi-Boroujeni, H., Mohammadifard, N. and Sarrafzadegan, N., 2012. Potato consumption and cardiovascular disease risk factors among Iranian population. *Int J Food Sci Nutr*. 63(8): 913-920. doi: 10.3109/09637486.2012.690024
 26. Khosravi-Boroujeni, H., Sarrafzadegan, N. and Mohammadifard, N., 2013. White rice consumption and CVD risk factors among Iranian population. *J Health Popul Nutr*. 31(2): 252-261. doi: 10.3109/09637486.2012.690024
 27. Shirzad, H., Shahrani, M. and Rafieian-Kopaei, M., 2009. Comparison of morphine and tramadol effects on phagocytic activity of mice peritoneal phagocytes in vivo. *Int Immunopharmacol*. 9(7-8): 968-970. doi: 10.1016/j.intimp.2009.04.002
 28. Azadmehr, A., Hajiaghache, R. and Afshari, A., 2011. Evaluation of in vivo immune response activity and in vitro anti-cancer effect by *Scrophularia megalantha*. *J Med Plants Res*. 5(11): 2365-2368.
 29. Hosseinpour, M., Mobini-Dehkordi, M. and Saffar, B., 2013. Antiproliferative effects of *Matricaria chamomilla* on *Saccharomyces cerevisiae*. *J Herb Med Pharmacol*. 2(2): 49-51.
 30. Youdim, K.A., Dobbie, M.S. and Kuhnle, G., 2003. Interaction between flavonoids and the blood-brain barrier: in vitro studies. *J Neurochem*. 85(1): 180-192. doi: 10.1046/j.1471-4159.2003.01652.x
 31. Bagerzadeh, F., Motalebi, A. and Anvar, S.A., 2021. Extraction, isolation and identification of flavonoids in *Holothuria leucospilota*. *Journal of Animal Environment*. 13(2): 378-386. doi: 10.22034/aej.2021.138978 (In Persian)
 32. Khan, H., Ullah, H. and Aschner, M., 2020. Neuroprotective effects of quercetin in Alzheimer's disease. *Biomolecules*. 10(1): 59. doi: 10.3390/biom10010059
 33. McDonald, S. and Prenzler, P.D., 2001. Autolovich M, Robards K. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*. 73: 73-84. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00288-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00288-0)
 34. Karimi, M., Parsaei, P. and Asadi, S.Y., 2013. Effects of *Camellia sinensis* ethanolic extract on histometric and histopathological healing process of burn wound in rat. *Middle-East J Sci Res*. 13(1): 14-19. doi: 10.5829/idosi.mejsr.2013.13.1.66118
 35. Parsaei, P., Karimi, M. and Asadi, S.Y., 2013. Bioactive components and preventive effect of green tea

- hyperglycemia and modulates the macrophage state in streptozotocin-induced type 1 diabetic mice. *PLoS One*. 12: e0186637. doi: 10.1371/journal.pone.0186637
52. **Shoham, S., Bejar, C. and Kovalev, E., 2003.** Intracerebroventricular injection of streptozotocin causes neurotoxicity to myelin that contributes to spatial memory deficits in rats. *Exp Neurol*. 184: 1043-1052. doi: 10.1016/j.expneurol.2003.08.015
 53. **Shoham, S., Bejar, C. and Kovalev, E., 2007.** Ladostigil prevents gliosis, oxidative-nitrative stress and memory deficits induced by intracerebroventricular injection of streptozotocin in rats. *Neuropharmacology*. 52: 836-843. doi: 10.1016/j.neuropharm.2006.10.005
 54. **Honari, N., Pouraboli, I. and Hakimzadeh, E., 2012.** Effect of *Vitex agnus-castus* Extract on Learning and Memory in Ovariectomized Rats. *J Mazandaran Univ Med Sci*. 22(93): 2-10. (In Persian)
 55. **Pereira, R.P., Fachinetto, R. and de Souza Prestes, A., 2009.** Antioxidant effects of different extracts from *Melissa officinalis*, *Matricaria recutita* and *Cymbopogon citratus*. *Neurochem Res*. 34(5): 973-983. doi: 10.1007/s11064-008-9861-z
 56. **Gomaa, A., Hashem, T. and Mohamed, M., 2003.** *Matricaria chamomilla* extract inhibits both development of morphine dependence and expression of abstinence syndrome in rats. *J Pharmacol Sci*. 92(1): 50-55. [https://doi.org/10.1254/S1347-8613\(19\)32695-7](https://doi.org/10.1254/S1347-8613(19)32695-7)
 57. **Chandrashekhar, V.M., Ranpariya, V.L. and Ganapaty, S., 2010.** Neuroprotective activity of *Matricaria recutita* Linn against global model of ischemia in rats. *J Ethnopharmacol*. 127(3): 645-651. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.12.009>
 58. **Ranpariya, V.L., Parmar, S.K. and Sheth, N.R., 2011.** Neuroprotective activity of *Matricaria recutita* against fluoride- induced stress in rats. *Pharm Biol*. 49(7): 696-701. <https://doi.org/10.3109/13880209.2010.540249>
 59. **Zand, R.S., Jenkins, D.J. and Diamandis, E.P., 2001.** Effects of natural products and nutraceuticals on steroid hormone-regulated gene expression. *Clin Chim Acta*. 312(1-2): 213-219. doi: 10.1016/s0009-8981(01)00626-x
 60. **Kesmati, M., Raei, H. and Zadkarami, M., 2007.** Effect of *Matricaria chamomilla* hydroalcoholic extract on locomotor activity in the presence and absence of sex gland in male and female adult mice. *Shahid Chamran University Journal of Science*. 17(1): 73-83. (In Persian)