

## Effect of *Salvia officinalis* Hydroalcoholic Extract on Iron Oxide Nanoparticle Induced Memory Impairment in the Presence and Absence of Beta-Adrenergic Receptors in Adult Male Mice

Abtin Sh<sup>1</sup>, Khajepour L<sup>\*1</sup>, Kesmati M<sup>1</sup>, Najafzadeh H<sup>2</sup>

1. Department of Biology, School of Sciences, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran

2. Department of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran

\* *Corresponding author.* Tel: +989163117462 Fax: +986133331045 E-mail: khajepour@scu.ac.ir

Received: Jun 15, 2015 Accepted: Oct 27, 2015

### ABSTRACT

**Background & objectives:** *Salvia officinalis* is one of the memory-enhancing herbs that were used in the past. On the other hand, iron oxide nanoparticles which are widely used in medicine and industry may impair the brain process related to memory. In this investigation, the effect of hydro-alcoholic extract of *Salvia officinalis* on iron oxide nanoparticle induced memory impairment and the role of beta-adrenergic receptors in this effect were studied.

**Methods:** To assess the inhibitory avoidance memory, animals were trained in the step-down task and drugs (saline, hydro-alcoholic extract of sage leaves, nanoparticles of iron oxide and propranolol) were injected immediately after training by intraperitoneal (ip) injections. Long-term memory was tested 24 hours later and step-down latencies were recorded.

**Results:** Administration of iron oxide nanoparticles (5 mg/kg, ip) impaired memory retrieval. *Salvia officinalis* extract (40 mg/kg, ip) also prevented iron oxide nanoparticle induced long-term memory impairment. On the other hand, administration of propranolol (5, 10 mg/kg, ip) before *Salvia officinalis* extract (40 mg/kg, ip) and iron oxide nanoparticles (5 mg/kg, ip) attenuated the effect of *Salvia officinalis* extract.

**Conclusion:** It seems that extract of *Salvia officinalis* leaves decreases iron oxide nanoparticle induced memory impairment. Beta-adrenergic mechanisms are possibly involved in these effects of *Salvia officinalis* extract.

**Keywords:** Beta-Adrenergic Receptors; Extraction of *Salvia officinalis* Leaves; Iron Oxide Nanoparticle; Passive Avoidance Memory; Step-Down.

## اثر عصاره آبی الکی مریم گلی بر تخریب حافظه ناشی از نانوذرات اکسید آهن در حضور و غیاب مسدودکننده گیرنده‌های بتا- آدرنرژیک در موش سوری نر بالغ

شیما آبتین<sup>۱</sup>، لطف الله خواجه پور<sup>۱\*</sup>، مهناز کسمتی<sup>۱</sup>، حسین نجف زاده<sup>۲</sup>

۱. گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران

۲. گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران

\* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۹۱۶۳۱۱۷۴۶۲ فاکس: ۰۶۱۳۳۳۳۱۰۴۵ پست الکترونیک: khajepour@scu.ac.ir

### چکیده

**زمینه و هدف:** مریم گلی یکی از گیاهان دارویی بهبود دهنده حافظه است که از گذشته مورد استفاده بشر قرار دارد. از طرف دیگر، نانو ذرات اکسید آهن که امروزه کاربرد وسیعی در پزشکی و صنعت دارد، ممکن است فرایندهای مغزی مرتبط با حافظه را مختل نماید. در تحقیق حاضر، اثر عصاره آبی الکی مریم گلی بر تخریب حافظه ناشی از نانو ذرات اکسید آهن و نقش گیرنده‌های بتا- آدرنرژیک در این اثر، مورد مطالعه قرار گرفت.

**روش کار:** جهت ارزیابی حافظه اجتنابی مهباری، حیوانات در دستگاه استپ داوون آموزش داده شدند و بلافاصله پس از آموزش، داروها (سالین، عصاره آبی- الکی برگ مریم گلی، نانو ذرات اکسید آهن و پروپرانولول) به صورت درون صفاقی تزریق گردید. ۲۴ ساعت بعد، حافظه بلند مدت آنها مورد آزمون قرار گرفت و مدت زمان تاخیر پائین آمدن حیوانات از سکو ثبت گردید.

**یافته‌ها:** تزریق نانو ذرات اکسید آهن (۵ میلیگرم/کیلوگرم) فراخوانی حافظه را کاهش داد ( $p < 0.05$ ). همچنین تزریق عصاره گیاه مریم گلی (۲۰، ۴۰ mg/kg)، مانع از اثر کاهش دهنده نانو ذرات اکسید آهن بر حافظه بلند مدت گردید ( $p < 0.01$ ). از طرف دیگر تزریق پروپرانولول (۵۰ mg/kg) پیش از عصاره مریم گلی (۴۰ میلیگرم/کیلوگرم) به اضافه نانو ذرات اکسید آهن (۵ میلیگرم/کیلوگرم)، اثر مریم گلی را در بهبود حافظه مهار کرد.

**نتیجه گیری:** به نظر می‌رسد عصاره گیاه مریم گلی اثر تخریبی نانوذرات اکسید آهن بر حافظه را کاهش می‌دهد. ممکن است مکانیسم‌های بتا آدرنرژیک در این اثر عصاره گیاه مریم گلی دخالت داشته باشد.

**واژه‌های کلیدی:** گیرنده‌های بتا آدرنرژیک، عصاره برگ گیاه مریم گلی، نانو ذرات اکسید آهن، حافظه اجتنابی غیرفعال، استپ داوون

پذیرش: ۹۴/۸/۵

دریافت: ۹۴/۳/۲۵

### مقدمه

داروهای گیاهی حاوی ترکیبات گوناگون از جمله مواد آنتی اکسیدانی هستند که می‌توان برای از بین بردن یا کاهش اثرات سمی ناشی از اکسیدان‌های مختلف از آنها استفاده نمود. مطالعات نشان می‌دهد برخی از داروهای گیاهی موجب کاهش پیشرفت بیماری‌های تضعیف کننده سیستم عصبی از جمله آلزایمر می‌شوند [۱]. از جمله این گیاهان می‌توان

گیاه مریم گلی (سیج)<sup>۱</sup> را نام برد. اسانس و عصاره‌های آبی الکی مریم گلی در شرایط آزمایشگاهی<sup>۲</sup> استیل کولین استراز و بوتیریل کولین استراز را مهار می‌کند [۲،۳]. علاوه بر این فعالیت آنتی اکسیدانی، اثرات نیکوتینی و خاصیت ضدالتهابی آن نیز گزارش شده است [۴،۵]. مواد آنتی اکسیدانی این گیاه می‌تواند مسمومیت عصبی ناشی از

<sup>۱</sup> *Salvia officinalis* (Sage)

<sup>۲</sup> *In vitro*

آلومینیوم را کاهش دهد [۶]. مطالعات نشان داده‌اند که عصاره‌های برگ گیاه مریم گلی حافظه را بهبود می‌بخشد [۷، ۸]. اثر گیاه مریم گلی بر حافظه ممکن است حاصل بهبود عملکرد مغز از طریق خواص آنتی‌اکسیدانی این گیاه باشد. همچنین ممکن است این عصاره‌ها عملکرد سیستم‌های نوروترانسمیتری مرکزی مؤثر بر حافظه را تقویت کنند. بنابراین استفاده از این گیاه، برای موارد درمانی کاهش حافظه ناشی از عوامل مختلف، نیاز به بررسی بیشتری دارد.

نانوذرات اکسید آهن، ذراتی با خواص منحصر به فرد و پتانسیل بالا برای استفاده‌های گوناگون در پزشکی و صنعت هستند. از جمله کاربردهای این ذرات در پزشکی می‌توان حمل دارو در بدن، تصویربرداری، ترمیم بافتی و سم‌زدایی مایعات بیولوژیک را نام برد [۹، ۱۰]. اگرچه نانوذرات اکسید آهن نسبت به سایر نانوذرات فلزی اثر سمی کمتری دارند، اما ممکن است موجب عوارضی از قبیل افزایش عوامل آپوپتوتیک و التهاب، تضعیف عملکرد میتوکندری، القای استرس اکسیداتیو و آسیب مواد ژنتیکی گردند. القای استرس اکسیداتیو می‌تواند به عنوان عامل اصلی بوجود آورنده عوارض جانبی نانوذرات اکسید آهن محسوب شود [۱۱، ۱۲]. از سوی دیگر نانوذرات اکسید آهن به راحتی از سد خونی مغزی عبور می‌کنند [۱۳] و ممکن است که این ذرات با اثرات سمی خود بر سلول‌های عصبی موجب تضعیف عملکرد مغز، از جمله حافظه و یادگیری شوند. بنابراین، با توجه به توسعه روزافزون استفاده از این ذرات و امکان ورود ناخواسته آنها به بدن (از طریق تنفس، گوارش و...)، مطالعه اثرات جانبی این مواد و یافتن راه‌هایی برای جلوگیری از بروز عوارض سوء آنها ضروری به نظر می‌رسد. دخالت نوروترانسمیترهای مختلف موجود در مغز، از قبیل گلوتامات، گابا، دوپامین، استیل‌کولین، سروتونین و

نوراپی نفرین در فرآیندهای شناختی از جمله یادگیری و حافظه به خوبی مشخص شده است [۱۴]. گزارش شده است که سیستم آدرنرژیک مرکزی در تنظیم عملکردهای شناختی و رفتاری شامل خواب و بیداری، شکل‌پذیری سیناپسی، یادگیری و حافظه نقش مهمی دارد و تغییر در فعالیت این سیستم باعث بروز اختلالات روانی از قبیل؛ افسردگی، پرخاشگری، اضطراب و روان‌پریشی می‌گردد [۱۵، ۱۶]. نوراپی نفرین از طریق گیرنده‌های آلفا و بتا، که با پروتئین-G جفت می‌شوند، در سیناپس‌ها مداخله می‌کند. گیرنده‌های بتا-آدرنرژیک در نواحی مختلف مغزی، در تنظیم یادگیری و پردازش و تثبیت حافظه دخالت دارند [۱۷]. توزیع گیرنده‌های بتا-آدرنرژیک مرکزی اثرات سودمند ورزش روی حافظه را میانجی‌گری می‌کنند [۱۸]. در این مطالعه اثر عصاره مریم گلی بر تضعیف حافظه ناشی از نانوذرات اکسید آهن در حضور یا عدم حضور گیرنده‌های بتا-آدرنرژیک مورد بررسی قرار گرفته است.

## روش کار

### حیوانات و داروها

در این تحقیق تجربی، ۸۰ سر موش سوری به وزن ۳۰-۲۵ گرم به طور اتفاقی انتخاب و در گروه‌های ۸تایی تقسیم شدند. این حیوانات از مرکز تکثیر حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه جندی شاپور اهواز تهیه شدند. در طول مدت آزمایشات تمام موش‌ها در یک دوره تاریکی-روشنایی ۱۲ ساعته و در دمای  $24 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. به غیر از زمان آزمایش، در تمام اوقات آب و غذای کافی در اختیار آنها قرار داشت. آزمایشات در دوره روشنایی و در محدوده ساعت ۹ صبح تا ۱۳ بعد از ظهر انجام گرفت. داروهای مورد استفاده در این مطالعه شامل نانوذرات اکسید آهن ( $5, 2/5$  mg/kg)، عصاره آبی-الکلی برگ گیاه مریم گلی ( $20, 40$  mg/kg)، پروپرانولول ( $5, 10, 20$  mg/kg) و سالین بود که

تزریق شدند). آزمون فراخوانی حافظه بلندمدت حیوان یک روز بعد از مرحله آموزش انجام می‌شد. به این صورت که هر موش روی سکوی دستگاه قرار می‌گرفت (بدون ایجاد شوک) و مدت زمان توقف موش بر روی سکو به مدت ۵ دقیقه ثبت می‌گردید. مدت زمان تاخیر پایین آمدن از سکو (تأخیر) به عنوان شاخص سنجش حافظه در نظر گرفته می‌شد. هر چه این زمان بیشتر باشد، نشان‌دهنده افزایش حافظه و تقویت فراخوانی آن است.

#### گروه بندی حیوانات

گروه کنترل: دریافت کننده سالیس (درون صفاقی)، پس از آموزش؛

گروه‌های دریافت کننده نانو اکسید آهن (۲/۵، ۵ mg/kg)، پس از آموزش [۱۹]؛

گروه‌های دریافت کننده عصاره آبی الکی گیاه مریم گلی (۲۰، ۴۰ mg/kg)، پس از آموزش [۷، ۳۵]؛

گروه‌های دریافت کننده پروپرانولول (۵، ۱۰، ۲۰ mg/kg)، پس از آموزش [۱۵، ۴۳]؛

گروه دریافت کننده نانو اکسید آهن (۵ mg/kg) و عصاره آبی الکی گیاه مریم گلی (۲۰ mg/kg)، پس از آموزش؛

گروه دریافت کننده نانو اکسید آهن (۵ mg/kg) و عصاره آبی الکی گیاه مریم گلی (۴۰ mg/kg)، پس از آموزش؛

گروه دریافت کننده نانو اکسید آهن (۵ mg/kg)، عصاره آبی الکی گیاه مریم گلی (۴۰ mg/kg) و پروپرانولول (۵ mg/kg) پس از آموزش؛

گروه دریافت کننده نانو اکسید آهن (۵ mg/kg)، عصاره آبی الکی گیاه مریم گلی (۴۰ mg/kg) و پروپرانولول (۱۰ mg/kg) پس از آموزش.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه به روش غیرپارامتریک و تست تکمیلی دانت، به کمک نرم افزار SPSS انجام گرفت. سطح معنی‌داری برابر  $p < 0.05$  در نظر گرفته شد.

کمی‌پیش از شروع آزمایشات و به طور روزانه تهیه می‌شد. سوسپانسیون نانوذرات در سالیس به مدت ۱۵ دقیقه توسط دستگاه اولتراسونیک پراکنده می‌شد و سپس تزریق می‌گردید. عصاره آبی- الکی برگ گیاه مریم گلی و پروپرانولول نیز در سالیس حل می‌شد. داروها در حجم ۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم وزن حیوانات، بلافاصله پس از آموزش و به صورت درون صفاقی تزریق می‌شدند.

#### حافظه اجتنابی غیر فعال

برای سنجش فراخوانی حافظه اجتنابی غیرفعال در این پژوهش از دستگاه استپ داون<sup>۱</sup> (شرکت برج صنعت ایران) استفاده گردید. این دستگاه شامل یک جعبه از جنس پلکسی گلاس و رنگ شفاف به ابعاد ۳۰×۳۰ سانتی متر و ارتفاع ۴۰ سانتی متر است. در کف دستگاه میله‌های فولادی به قطر ۲/۵ میلی‌متر و به فاصله ۱ سانتی متر از یکدیگر تعبیه شده است. همچنین در قسمت میانی دستگاه و بر روی میله‌های فلزی یک سکوی چوبی به ابعاد ۵×۵×۵ سانتیمتری قرار داشت. این میله‌ها توسط یک کابل ارتباطی به استیمولاتور متصل بود که می‌توانست یک جریان الکتریکی (با مشخصات ۱ هرتز و ۴۵ ولت) را در میله‌های فلزی برقرار کند.

در روز آموزش، هر موش روی سکوی دستگاه قرار می‌گرفت و موش بر اساس ترس ذاتی از ارتفاع، از سکو پایین می‌آمد. اگر زمان توقف موش روی سکو (قبل از پائین آمدن) بیش از ۲۰ ثانیه بود، حیوان از آزمایش خارج می‌شد. به محض پائین آمدن موش از سکو و قرار گرفتن هر ۴ دست و پای حیوان روی میله‌ها یک جریان الکتریکی به مدت ۱۵ ثانیه از طریق میله‌های دستگاه به پاهای موش وارد می‌شد (مرحله آموزش). سپس موش‌ها را از دستگاه خارج نموده و داروی مورد نظر بلافاصله بعد از آموزش به موش تزریق می‌گردید (در موارد تزریق بیش از یک دارو، داروها با فاصله ۵ دقیقه از یکدیگر و در یک نوبت

<sup>۱</sup> Step- Down

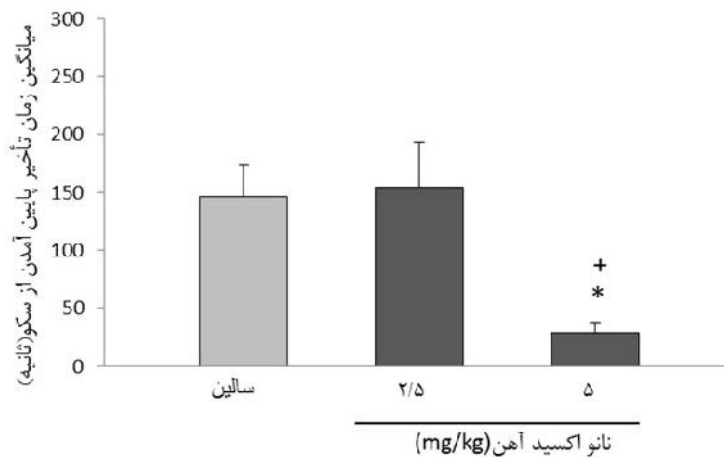
**یافته‌ها**

**اثر تزریق پس از آموزش نانوذرات اکسید آهن بر**

**حافظه بلند مدت**

در این بخش از تحقیق سه گروه از حیوانات مورد استفاده قرار گرفتند. یک گروه سالین (۱۰ میلی گرم/کیلوگرم) و دو گروه دیگر نانوذرات اکسید آهن (۲/۵، ۵ میلی گرم/کیلوگرم) را دریافت

نمودند. تحلیل داده‌ها نشان داد که در زمان تأخیر پائین آمدن از سکو بین گروه دریافت کننده مقدار ۵ میلی گرم نانوذرات اکسید آهن و گروه دریافت کننده سالین تفاوت معنی داری ( $p < 0.05$ ) وجود داشت (نمودار ۱). به عبارت دیگر تزریق پس از آموزش این مقدار از نانوذرات اکسید آهن حافظه بلندمدت را کاهش داد.

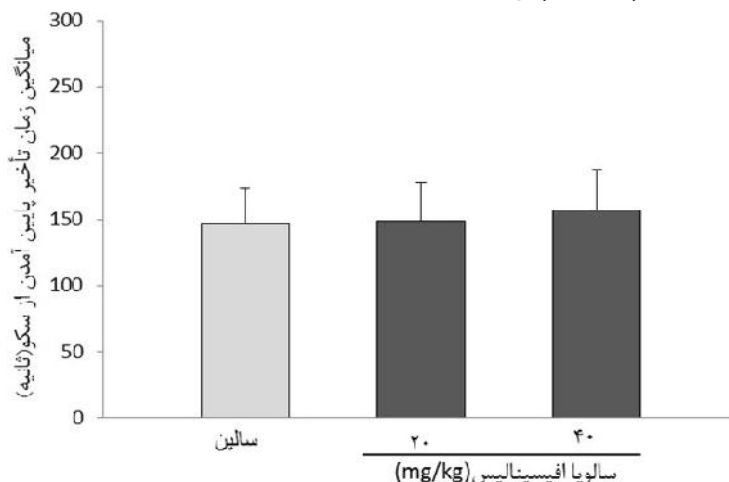


نمودار ۱. اثر تزریق پس از آموزش مقادیر مختلف نانو اکسید آهن بر زمان تأخیر پائین آمدن از سکو در مدل حافظه اجتنابی غیر فعال ستون‌ها انحراف معیار ± میانگین را نشان می‌دهند.  $p < 0.05$  \* در مقایسه با گروه کنترل است.  $p < 0.05$  + مقایسه بین گروه‌های دریافت کننده نانو اکسید آهن است. F (درجه آزادی کل): ۰.۲۴، p واقعی داده‌ها: ۰/۰۱۳

**اثر تزریق عصاره مریم گلی بر حافظه بلند مدت**

سه گروه از موش‌ها به ترتیب سالین (۱۰ میلی لیتر/کیلوگرم) و عصاره گیاه مریم گلی (۲۰، ۴۰ میلی گرم/کیلوگرم) را بلافاصله پس از آموزش دریافت نمودند و آزمون فراخوانی حافظه

و فعالیت حرکتی آنها یک روز بعد انجام گردید. آنالیز واریانس یک طرفه تفاوت معنی داری را بین گروه‌های مختلف، در مدت زمان تأخیر پائین آمدن از سکو نشان نداد (نمودار ۲).

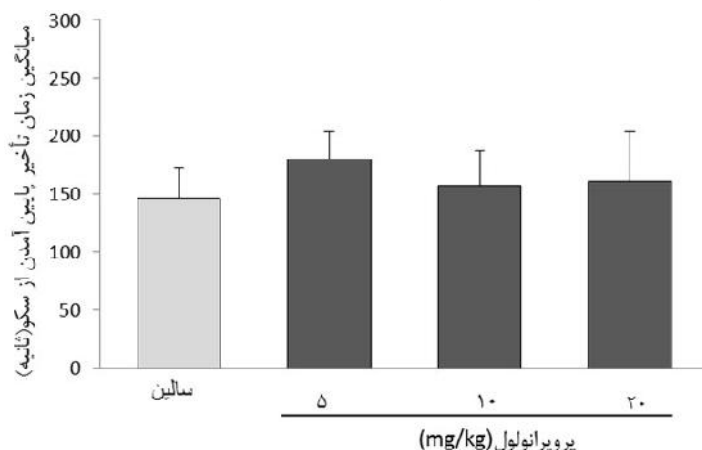


نمودار ۲. اثر تزریق پس از آموزش مقادیر مختلف مریم گلی بر زمان تأخیر پائین آمدن از سکو در مدل حافظه اجتنابی غیر فعال ستون‌ها انحراف معیار ± میانگین را نشان می‌دهند. F (درجه آزادی کل): ۰.۲۸، p واقعی داده‌ها: ۰/۹۷۲

## اثر تزریق پروپرانولول بر حافظه بلند مدت

در این مرحله از آزمایشات یک گروه از حیوانات سالین (۱۰ میلی لیتر/کیلوگرم) و ۳ گروه دیگر مقادیر مختلف پروپرانولول (۵، ۱۰، ۲۰ میلیگرم/کیلوگرم) را دریافت کردند. ۲۴ ساعت بعد آزمون فراخوانی

حافظه انجام گرفت. آنالیز واریانس یک طرفه، تفاوت معنی داری را بین گروه‌های مختلف حیوانات نشان نداد (نمودار ۳).

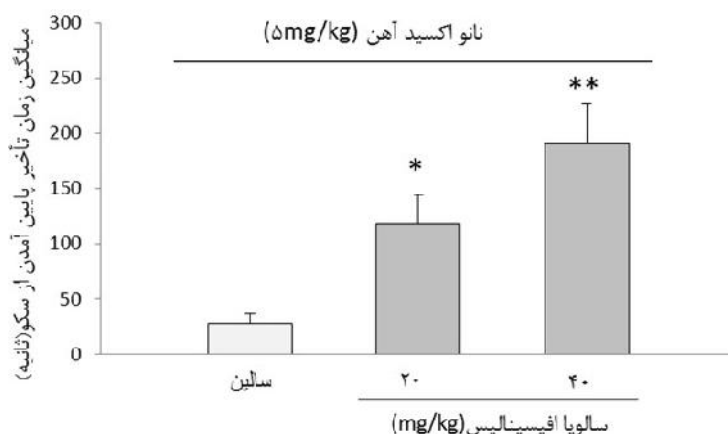


نمودار ۳. اثر تزریق پس از آموزش مقادیر مختلف پروپرانولول بر زمان تأخیر پائین آمدن از سکو در مدل حافظه اجتنابی غیر فعال ستون‌ها انحراف معیار  $\pm$  میانگین را نشان می‌دهند. F (درجه آزادی کل): ۰.۳۳، p واقعی داده‌ها: ۰.۸۵۳.

## اثر تزریق مریم گلی بر تخریب حافظه بلند مدت ناشی از نانو اکسید آهن

در این آزمایش یک گروه از حیوانات بلافاصله پس از آموزش، سالین (۱۰ میلی لیتر/کیلوگرم) و دو گروه از آنها مقادیر بی اثر مریم گلی (۲۰، ۴۰ میلی گرم/کیلوگرم) دریافت کردند. پس از ۵ دقیقه به همه موش‌ها مقدار مؤثر نانو ذرات اکسید آهن

(۵ میلی گرم/کیلوگرم) تزریق گردید. یک روز بعد از آموزش، فراخوانی حافظه مورد آزمون قرار گرفت. آنالیز واریانس یک طرفه، برای مدت زمان تأخیر پائین آمدن از سکو تفاوت معنی داری را بین گروه‌ها نشان داد ( $p < 0.01$ ) (نمودار ۴).

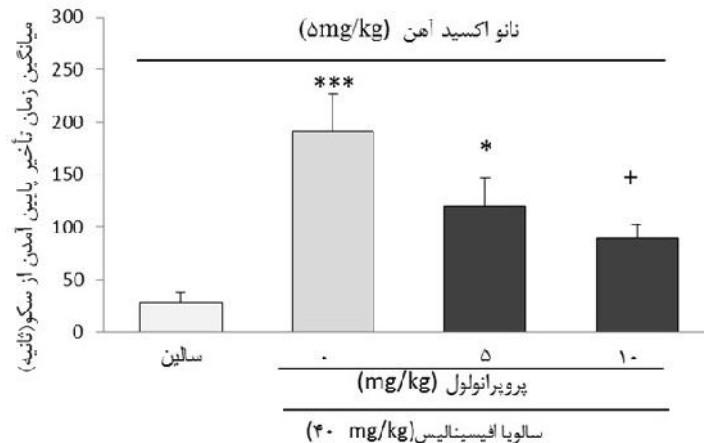


نمودار ۴. اثر تزریق پس از آموزش مریم گلی بر تخریب حافظه القا شده توسط نانو اکسید آهن در مدل حافظه اجتنابی غیر فعال ستون‌ها انحراف معیار  $\pm$  میانگین را نشان می‌دهند.  $p < 0.01$  \*\* در مقایسه با گروه دریافت کننده نانو اکسید آهن (به تنهایی) است.  $p < 0.05$  \* در مقایسه با گروه دریافت کننده نانو اکسید آهن (به تنهایی) است. F (درجه آزادی کل): ۰.۲۴، P واقعی داده‌ها: ۰.۰۰۱.

**اثر تزریق مریم گلی (۵mg/kg) به همراه پروپرانولول بر تخریب حافظه بلند مدت ناشی از نانو اکسید آهن**

برای انجام این آزمایش چهار گروه از موش‌ها مورد آزمایش قرار گرفتند. به یک گروه از حیوانات بلافاصله پس از آموزش، سالیین (۱۰ میلی‌لیتر/کیلوگرم) و نانوذرات اکسید آهن (۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) به ترتیب و به فاصله ۵ دقیقه تزریق گردید. به گروه دوم ابتدا مریم گلی (۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) ۵ دقیقه بعد نانوذرات اکسید

آهن (۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) تزریق گردید. دو گروه دیگر بلافاصله پس از آموزش، پروپرانولول (۵،۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم)، مریم گلی (۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) و نانوذرات اکسید آهن (۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) را به ترتیب و با فاصله زمانی ۵ دقیقه‌ای دریافت نمودند. آنالیز واریانس یک طرفه برای مدت زمان تاخیر پایین آمدن از سکو (تفاوت معنی‌داری را بین گروه‌ها نشان داد ( $p < 0.001$ ) (نمودار ۵).



نمودار ۵. اثر تزریق پس از آموزش مریم گلی به همراه پروپرانولول بر تخریب حافظه القاشده توسط نانو اکسید آهن در مدل حافظه اجتنابی غیرفعال ستون‌ها انحراف معیار  $\pm$  میانگین را نشان می‌دهند.  $p < 0.001$  \*\*\* در مقایسه با گروه دریافت کننده نانو اکسید آهن (به تنهایی) است.  $p < 0.05$  \* در مقایسه با گروه دریافت کننده نانو اکسید آهن (به تنهایی) است.  $p < 0.05$  + در مقایسه با گروه دریافت کننده مریم گلی به همراه نانو اکسید آهن است. F (درجه آزادی کل): ۲۶،  $p$  واقعی داده‌ها: ۰/۰۰۰

## بحث

با وجود این که مطالعات مختلفی درباره اثرات مضر نانوذرات اکسید آهن بر عملکرد مغز انجام گرفته است، تاکنون اثرات این مواد بر فرایندهای شناختی از قبیل یادگیری و حافظه به خوبی مورد بررسی قرار نگرفته است. در تحقیق حاضر ابتدا اثر تزریق بعد از آموزش نانوذرات اکسید آهن بر فرایند حافظه اجتنابی غیرفعال در موش سوری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که مقدار نانوذرات اکسید آهن (۵ میلی‌گرم/کیلوگرم) حافظه بلند مدت را کاهش داد. مطالعات انجام شده توسط خورشیدی و

همکاران نیز نشان داده است که تزریق درون صفاقی نانوذرات اکسید آهن موجب ایجاد اختلال در فراخوانی حافظه اجتنابی غیرفعال در موش صحرایی گردید [۱۹]. نانوذرات اکسید آهن با عبور از سدخونی-مغزی به درون مغز راه یافته [۲۰،۲۱] و توسط سلول‌های مختلف جذب می‌شوند [۲۲،۲۳]. سان<sup>۱</sup> و همکاران نشان دادند که نانوذرات اکسید آهن در نورون‌ها، آستروسیت‌ها و سلول‌های اندوتلیال مویرگی تجمع پیدا می‌کنند و کارایی نورون‌ها و آستروسیت‌ها را کاهش می‌دهند [۲۳].

<sup>1</sup> Sun

همچنین مطالعات انجام شده توسط ریوت<sup>۱</sup> و همکاران نیز نشان داد که در معرض قرار گرفتن نورهن ها با نانوذرات اکسید آهن موجب آسیب سلولی و مرگ نورهن ها می شود [۲۴]. اثرات سمی نانوذرات اکسید آهن احتمالاً وابسته به مقدار و ترکیب این مواد در مغز می باشد [۲۳]. مکانیسم اصلی عمل نانوذرات اکسید آهن در ایجاد سمیت هنوز مشخص نیست. این مواد بسیار واکنش پذیر بوده و تمایل زیادی برای ترکیب با مولکول های زیستی دارند، که موجب آزادسازی عوامل التهابی و القاء استرس اکسیداتیو می شوند. بیشترین موارد مسمومیت گزارش شده با نانوذرات به این صورت انجام می گیرد [۲۵، ۲۶]. استرس اکسیداتیو با افزایش جریان کلسیم و کاهش متابولیسم انرژی در مغز، می تواند موجب اختلال در عملکرد مغز شود [۲۷، ۲۸]. اثرات ناشی از استرس اکسیداتیو می تواند به عنوان یک مدل پیشنهادی برای اختلالات عصبی القاشده توسط نانوذرات اکسید آهن مطرح گردد [۲۵]. افزایش آهن با کاهش کارایی و افزایش مرگ نورهن ها می تواند منجر به ایجاد اختلال در سنتز و رهاسازی نوروترانسمیترها از جمله در سیستم کولینرژیک شود. این شرایط می تواند زمینه ساز بروز بسیاری از اختلالات عصبی از جمله آلزایمر گردد [۲۹]. گزارش شده است که تزریق درون صفاقی اکسید آهن و نانوذرات اکسید آهن موجب ایجاد اختلال در سیستم های سروتونرژیک، دوپامینرژیک و آدرنرژیک می شود [۱۹].

در این تحقیق همچنین تزریق مقادیری از عصاره برگ گیاه مریم گلی که به تنهایی اثری بر حافظه نداشت، وقتی به همراه مقدار موثر نانوذرات اکسید آهن به کار برده شد، مانع از اثر تخریبی این مواد بر فراخوانی حافظه گردید. در ارتباط با تداخل اثر این مواد بر فرآیند حافظه تاکنون گزارشی ارائه نشده است. با توجه به اینکه آنتی اکسیدان ها فعالیت های

شناختی را بهبود می بخشند [۳۰]، ممکن است ترکیبات آنتی اکسیدان موجود در عصاره مریم گلی مانع از ایجاد آسیب اکسیداتیو القاشده توسط نانوذرات اکسید آهن گردد و از این طریق از اثرات مخرب این مواد بر عملکرد نورهن های مغزی و بنابراین فراخوانی حافظه جلوگیری کند [۳۱، ۳۲]. برگ گیاه مریم گلی حاوی مواد آنتی اکسیدانی مختلف از قبیل ترکیبات فنولیک، فلاونوئیدها، فلاون گلیکوزیدها، روزمارینیک اسید و... می باشد [۳۱، ۳۳] و بعضی از این مواد مانند روزمارینیک اسید به راحتی از سد خونی مغزی عبور می کند و مغز را در برابر آسیب های اکسیداتیو محافظت می کند [۳۴]. عصاره مریم گلی دارای فعالیت کولینرژیک بوده و فعالیت آنزیم های استیل کولین استراز را کاهش می دهد [۳، ۷، ۸]. مطالعه انجام شده توسط عیدی و همکاران نشان داد که فعال سازی گیرنده های کولینرژیک موسکارینی و نیکوتینی به ترتیب توسط پیلو کارپین و نیکوتین باعث تقویت اثرات مریم گلی و غیرفعال سازی این گیرنده ها توسط آنتاگونیست های آنها موجب کاهش اثرات مریم گلی در بهبود حافظه می شود [۷]. بنابراین ممکن است عصاره برگ گیاه مریم گلی از طریق مداخله در سیستم کولینرژیک مغزی از اثر تخریبی نانوذرات اکسید آهن بر حافظه ممانعت نماید. گزارش شده است که عصاره مریم گلی حافظه فضایی را در موش سوری بهبود بخشیده است [۸]. مکوندی<sup>۲</sup> و همکاران نیز بیان کردند که عصاره مریم گلی حافظه اجتنابی غیرفعال را در موش صحرایی افزایش داده و مانع از اثرات تخریبی مورفین بر حافظه شد [۳۵].

سیستم آدرنرژیک یکی از مهمترین سیستم های نوروترانسمیتری موجود در نواحی مختلف سیستم عصبی مرکزی است. این سیستم در آمیگدال و هیپوکامپ نقش مهمی در تثبیت حافظه بلندمدت دارد [۳۶]. گیرنده های بتا- آدرنرژیک مرکزی اثرات

<sup>۱</sup> Rivet<sup>۲</sup> Makondi



است که نوراپی نفرین بر ذخیره حافظه را واسطه‌گری می‌کنند [۱۸]. فعال‌سازی این گیرنده‌ها بوسیله آگونیست‌ها، نگهداری حافظه را در موش صحرایی افزایش می‌دهد، در حالی که آنتاگونیست‌های آنها حافظه اجتنابی غیرفعال را در حیوانات کاهش می‌دهد [۱۵،۳۷]. گیرنده‌های بتا- آدرنرژیک هیپوکامپی حافظه طولانی مدت را تنظیم می‌کنند [۳۸].

در تحقیق حاضر تزریق درون صفاقی مقادیری از پروپرانولول (آنتاگونیست گیرنده‌های بتا- آدرنرژیک) که به تنهایی اثری بر فرآیند حافظه نداشتند، موجب کاهش اثرات بهبوددهنده مریم گلی بر تخریب حافظه القاشده توسط نانوذرات اکسید آهن شدند. تاکنون در ارتباط با تداخل اثر این مواد بر فرآیند حافظه گزارشی ارائه نشده است. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که ممکن است عصاره مریم گلی با فعال‌سازی گیرنده‌های بتا- آدرنرژیک اثر بهبوددهنده خود را بر حافظه اعمال نماید. از سوی دیگر برخی مطالعات وجود یک کنش متقابل بین سیستم نورآدرنرژیک و سیستم‌های نوروترانسمیتری دیگر از جمله سیستم کولینرژیک را نشان می‌دهند [۳۹،۴۰]. غلظت‌های پائین ایزوپروترونول (آگونیست گیرنده بتا- آدرنرژیک) و کارباکول (آگونیست کولینرژیک) که به تنهایی اثری بر القاء LTP<sup>۱</sup> ندارند، وقتی با هم به کار می‌روند، القاء LTP در هیپوکامپ را به طور چشمگیری تسهیل می‌کنند [۴۱]. همچنین تزریق آنتاگونیست گیرنده بتا- آدرنرژیک (بتاکسول) در ناحیه هیپوکامپ، اثر بهبوددهنده آگونیست موسکارینی (پیلوکارپین) بر حافظه را کاهش می‌دهد [۳۹]. مطالعات نشان داده

### نتیجه گیری

مطالعات پیشین برهم‌کنش دو سیستم کولینرژیک و بتا- آدرنرژیک مرکزی را در فرایند حافظه اجتنابی غیرفعال پیشنهاد می‌کنند. بنابراین ممکن است پروپرانولول از طریق کاهش فعالیت کولینرژیک عصاره آبی- الکی برگ گیاه مریم گلی باعث کاهش اثرات این عصاره در بهبود کاهش حافظه ناشی از نانوذرات اکسید آهن در روز آزمون گردد. از طرف دیگر ممکن است مداخله پروپرانولول در این اثر عصاره مریم گلی با واسطه فعال‌سازی گیرنده‌های اویپوئیدرژیک و یا سایر سیستم‌های نوروترانسمیتری انجام گیرد.

### تشکر و قدردانی

این تحقیق حاصل کار پژوهشی دانشجویی در مقطع کارشناسی ارشد فیزیولوژی در قالب پایان‌نامه می‌باشد و هزینه‌های آن از محل پژوهانه موضوع قرارداد شماره ۹۲/۳/۰۲/۱۹۰۹۶ مورخ ۲۵/۱۲/۱۳۹۲ تامین شده است. بدین وسیله از مساعدت معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز در انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌گردد.

Long-Term Potentiation

<sup>۱</sup> Long-Term Potentiation

**References**

- 1- Akhondzadeh S, Noroozian M, Mohammadi M, Ohadinia S, Jamshidi AH, Khani M. Salvia officinalis extract in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a double blind, randomized and placebo-controlled trial. J Clin Pharm Ther. 2003 Feb; 28(1):53-9.
- 2- Ferreira A, Proenca C, Serraheiro MLM, Araujo MEM. The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. J Ethnopharmacol. 2006 Nov; 108(1):31-37.
- 3- Savelev SU, Okello EJ. Butyryl- and acetyl-cholinesterase inhibitory activities in essential oils of Salvia species and their constituents. Phytother Res. 2004 Apr; 18(4): 315-324.
- 4- Limaa CF, Valentao PCR, Andrade PB, Seabra RM, Fernandes-Ferreira M, Pereira-Wilson C. Water and methanolic extracts of Salvia officinalis protect HepG2 cells from t-BHP induced oxidative damage. Chem Biol Interact. 2007 Apr; 167(2): 107-115.
- 5- Perrya NSL, Bollenb Ch, Perryb EK, Ballardc C. Salvia for dementia therapy: review of pharmacological activity and pilot tolerability clinical trial. Pharmacol Biochem Behav. 2003 Jun; 75(3): 651-659.
- 6- EL-Kholy WM, EL-Habibi EM, Mousa AT. Oxidative stress in brains of male rats intoxicated with aluminum and the neuromodulating effect of some forms of sage (Salvia officinalis). Am Sci. 2010 Feb; 6(12): 1283-1297.
- 7- Eidi M, Eidi A, Bahar M. Effects of *Salvia officinalis* L. (sage) leaves on memory retention and its interaction with the cholinergic system in rats. Nutrition. 2006 Mar; 22: 321-326.
- 8- Smach MA, Hafsa J, Charfeddine B, Dridi H, Limem K. Effects of sage extract on memory performance in mice and acetylcholinesterase activity. Ann Pharm Fr. 2015 Apr; 73(4):281-8.
- 9- Weinstein JS, Varallyay CG, Dosa E, Gahramanov S, Hamilton B, Rooney WD, et al. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: diagnostic magnetic resonance imaging and potential therapeutic applications in neurooncology and central nervous system inflammatory pathologies, a review. J Cereb Blood Flow Metab. 2010 Jan; 30(1): 15-35.
- 10- Lin MM, Kim HH, Kim H, Muhammed M, Kim DK. Iron oxide-based nanomagnets in nanomedicine: fabrication and applications. Nano Rev. 2010 Feb; 1: 1-17.
- 11- Naqvi S, Samim M, Abdin MZ. Concentration-dependent toxicity of iron oxide nanoparticles mediated by increased oxidative stress. Int J Nanomedicine. 2010 Nov; 5: 983 – 989.
- 12- Singh N, Jenkins GJS, Asadi R, Doak ShH. Potential toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPION). Nano Rev. 2010 Sep; 1: 53-58.
- 13- Qiao R, Jia Q, Huwel S, Xia R, Lio T, Gao F, et al. Receptor-mediated delivery of magnetic nanoparticles across the blood\_brain barrier. ACS Nano. 2012 Apr; 6(4): 3304-3310.
- 14- Myhrer T. Neurotransmitter systems involved in learning and memory in the rat: a meta-analysis based on studies of four behavioral tasks. Brain Res Rev. 2003 Mar; 41(2-3): 268-287.
- 15- Sun H, Mao Y, Wang J, Ma Y. Effects of beta-adrenergic antagonist, propranolol on spatial memory and exploratory behavior in mice. Neurosci Lett. 2011 Jul; 498(2): 133-137.
- 16- Yu JT, Wang ND, Ma T, Jiang H, Guan J, Tan L. Roles of  $\beta$ -adrenergic receptors in Alzheimer's disease: Implications for novel therapeutics. Brain Res Bull. 2011 Feb; 84(2): 111-117.
- 17- Gibbs ME, Huthinson DS, Summersb RJ. Noradrenalin release in the locus coeruleus modulates memory formation and consolidation; roles for  $\beta$  and  $\alpha$ -adrenergic receptor. Neurosci. 2010 Nov; 170(4): 1209-1222.
- 18- Ebrahimia Sh, Rashidy-Pour A, Vafaeia AA, Akhavanb MM. Central  $\beta$ -adrenergic receptors play an important role in the enhancing effect of voluntary exercise on learning and memory in rat. Behav Brain Res. 2010 Mar; 208(1): 189-193.
- 19- Khorshidi M, Kesmati M, Khajehpour L, Najaf Zadeh Varzi H. Comparison of the effect of iron oxide nanoparticles and bulk on the memory and associated alterations in dopamine and serotonin levels in the hippocampus of adult male rats. Physiol Pharmacol. 2013 Sum; 17(2): 204-215. [Full text in Persian]
- 20- Songbo X, Baolin Z, Lei W, Jun W, Xuan L, Gao Y, et al. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles coated with different polymers and their MRI contrast effects in the mouse brains. Appl Surf Sci. 2015 Jan; 326:32-38.

- 21- Cengelli F, Maysinger D, Tschudi-Monnet F, Montet X, Corot C, Petri-Fink A, et al. Interaction of functionalized superparamagnetic iron oxide nanoparticles with brain structures. *J Pharmacol Exp Ther.* 2006 Jul; 318(1): 108-116.
- 22- Thomsen LB, Linemann T, Pondman KM, Lichota J, Kim KS, Pieters RJ, et al. Uptake and transport of superparamagnetic iron oxide nanoparticles through human brain capillary endothelial cells. *ASC Chem Neurosci.* 2013 Oct; 4(10): 1352-1360.
- 23- Sun Z, Yathindranath V, Worden M, Thliveris J, Chu S, Parkinson F, et al. Characterization of cellular uptake and toxicity of aminosilane-coated iron oxide nanoparticles with different charges in central nervous system-relevant cell culture models. *Int J Nanomedicine.* 2013 Mar; 8: 961-970.
- 24- Rivet CJ, Yuan Y, Borca-Tasciuc DA, Gilbert RJ. Altering iron oxide nanoparticle surface properties induce cortical neuron cytotoxicity. *Chem Res Toxicol.* 2012 Jan; 25(1): 153-161.
- 25- Manke A, Wang L, Rojanasakul Y. Mechanisms of nanoparticle-induced oxidative stress and toxicity. *BioMed Res Int.* 2013 Aug; (2013): 1-15.
- 26- Murray AR, Kisin E, Inman A, Young ShH, Muhammed M, Burks T, et al. Oxidative stress and dermal toxicity of iron oxide nanoparticles In Vitro. *Cell Biochem Biophys.* 2013 Nov; 67(2): 461-476.
- 27- Mosconi L, Pupi A, De Leon MJ. Brain glucose hypometabolism and oxidative stress in preclinical alzheimer's disease. *Ann N Y Aca Sci.* 2009 Dec; 1147(1): 180-195.
- 28- Gibson GE. Interactions of oxidative stress with cellular calcium dynamics and glucose metabolism in Alzheimer's disease. *Free Radic Biol Med.* 2002 Jul; 32(11): 1061-1070.
- 29- Mandel S, Amit T, Bar-Am O, Youdim M. Iron dysregulation in Alzheimer's disease: Multimodal brain permeable iron chelating drugs, possessing neuroprotective-neurorescue and amyloid precursor protein-processing regulatory activities as therapeutic agents. *Prog Neurobiol.* 2007 Aug; 82(6): 348-360.
- 30- Meydani M. Antioxidants and cognitive function. *Nutri Rev.* 2001 Aug; 59(8): 75-82.
- 31- Miura K, Kikuzaki H, Nakatani N. Antioxidant activity of chemical components from sage (*Salvia officinalis* L.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) measured by the oil stability index method. *J Agric Food Chem.* 2002 Mar; 50(7): 1845-1851.
- 32- Silva JP, Gomes AC, Coutinho OP. Oxidative DNA damage protection and repair by polyphenolic compounds in PC12 cells. *Eur J Pharmacol.* 2008 Dec; 601(1-3): 50-60.
- 33- Lu Y, Foo LY. Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). *Food Chem.* 2001 Nov; 75(2): 197-202.
- 34- Youdim KA, Dobbie MS, Kuhnle G, Proteggente AR, Abbott J, Rice-Evans C. Interaction between flavonoids and the blood-brain barrier: in vitro studies. *J Neurochem.* 2003 Apr; 85(1): 180-192.
- 35- Alizadeh-Makondi A, Khajeh-Pour L, Kasmati M. Effect of hydro-alcoholic extract of *Salvia officinalis* on memory impaired by post-training administration of morphine using a passive avoidance paradigm in rat. *Kashan University of Medical Sciences.* 2012 win; 15(4): 302-309. (Full text in Persian)
- 36- Ramos BP, Arnsten AFT. Adrenergic pharmacology and cognition: Focus on the prefrontal cortex. *Pharmacol Ther.* 2007 Mar; 113(3): 523-536.
- 37- Schwabe L, Nader K, Pruessner JC.  $\beta$ -Adrenergic blockade during reactivation reduces the subjective feeling of remembering associated with emotional episodic memories. *Biol Psychol.* 2013 Feb; 92(2): 227-232.
- 38- Gelinás JN, Nguyen PV.  $\beta$ -Adrenergic receptor activation facilitates induction of a protein synthesis-dependent late phase of long-term potentiation. *J Neurosci.* 2005 Mar; 25(13): 3294-3303.
- 39- Bemani-Lirgeshasi S, Khajehpour L, Moazedi AA. The interaction of cholinergic muscarinic and beta-1 adrenergic receptors of the CA1 region in passive avoidance memory formation in rat. *J Babol Univ Med Sci.* 2014 win; 16(1): 22-30. (Full text in Persian)
- 40- Saber AJ, Cain DP. Combined  $\beta$ -adrenergic and cholinergic antagonism produces behavioral and cognitive impairments in the water maze: implications for alzheimer disease and pharmacotherapy with  $\beta$ -adrenergic antagonists. *Neuropsychopharmacology.* 2003 Jul; 28(7): 1247-1256.

- 41- Watabe AM, Zaki PA, Odell ThJ. Coactivation of  $\beta$ -adrenergic and cholinergic receptors enhances the induction of long-term potentiation and synergistically activates mitogen-activated protein kinase in the hippocampal CA1 region. *J Neurosci*. 2000 Aug; 20(16): 5924-5931.
- 42- Ho AKS, Singer G, Gershon S. Biochemical evidence of adrenergic interaction with cholinergic function in the central nervous system of the rat. *Psychopharmacologia*. 1971 Sep; 21(3): 238-246.
- 43- Decker MW, Gill TM, McGaugh JL. Concurrent muscarinic and  $\beta$ -adrenergic blockade in rats impairs place-learning in a water maze and retention of inhibitory avoidance. *Brain Research*. 1990 Apr; 513(1): 81-85.