

اثر اولئوروپئین بر حافظه احترازی غیرفعال در مدل آلزایمر القا شده توسط کلشی سین در موش بزرگ آزمایشگاهی

نویسندگان: سهیلا پورخداداد^{۱*}، مهرانوش مقدسی جهرمی^۱، زهرا خانی پور^۱ و منیژه کریمی^۲

۱. مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان

۲. گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم پایه، دانشگاه شاهد، تهران

E-mail: s.porkhodad@yahoo.com

*نویسنده مسئول: سهیلا پورخداداد

چکیده

مقدمه و هدف: آلزایمر یک بیماری نورودژنراتیو گسترده می‌باشد که با اختلال در حافظه و یادگیری همراه است. اولئوروپئین یک ترکیب فنولی با اثرات آنتی‌اکسیدانی و نوروپروتکتیو می‌باشد که باعث کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود عملکرد شناختی می‌شود. هدف از این مطالعه، بررسی اثرات پیش‌درمانی با اولئوروپئین بر اختلال شناختی القا شده توسط کلشی سین با استفاده از آزمون اجتنابی غیرفعال می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، از رت‌های ۲۵۰ تا ۲۰۰ گرم استفاده شد. اولئوروپئین (۱۰ و ۲۰) به مدت ۱۰ روز به صورت گاواژ به موش‌های صحرایی خوراندند و در روز دهم، ناحیه هیپوکامپ به صورت دوطرفه کانول‌گذاری شد و کلشی سین (۱۵ µg/rat) به داخل ناحیه CA1 هیپوکامپ تزریق گردید. یک هفته بعد، موش‌ها در دستگاه یادگیری اجتنابی غیرفعال آموزش دیدند و تست حافظه ۲۴ ساعت بعد از آموزش به صورت اندازه‌گیری زمان تأخیر ورود به قسمت تاریک شوک‌دهنده و زمان سپری شده در محفظه تاریک انجام شد.

نتایج: داده‌ها نشان داد که تزریق مرکزی کلشی سین سبب کاهش زمان تأخیر ورود به قسمت تاریک و افزایش زمان سپری شده در محفظه تاریک گردید. تزریق اولئوروپئین (۱۰ و ۲۰) پیش از تزریق کلشی سین (۱۵ µg/rat) توانست اختلال شناختی حاصل از کلشی سین را اصلاح کند.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که تزریق اولئوروپئین به صورت گاواژ اختلال ایجاد شده در یادگیری و حافظه توسط کلشی سین را بهبود می‌بخشد.

واژگان کلیدی: اولئوروپئین، آلزایمر، کلشی سین، حافظه احترازی غیرفعال، هیپوکامپ

دوماهنامه علمی-پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال بیست‌وسوم-شماره ۱۲۴
شهریور ۱۳۹۵

دریافت: ۱۳۹۵/۰۴/۱۵

آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۵/۰۵/۲۴

پذیرش: ۱۳۹۵/۰۶/۰۲

مقدمه

حیوانی مناسب برای مطالعه این بیماری ایجاد می کند (۶-۱۰).

تمرکز روی رژیم های غذایی مؤثر در کاهش خطر آلزایمر در سالمندان می تواند برای یافتن مولکول های قابل استفاده در پیشگیری و درمان بیماری آلزایمر سودمند باشد. شواهد زیادی این عقیده را تأیید می کنند که رژیم مدیترانه ای غنی از پلی فنول ها که روغن زیتون بخش عمده انرژی مصرفی آن را تشکیل می دهد، در پیشگیری از اختلالات مرتبط با سن، سرطان، سکنه مغزی، حوادث قلبی عروقی، بیماری های نورودژنراتیو و کاهش پاتولوژی بیماری شبه آلزایمر و اختلالات شناختی مؤثر می باشد (۱۱، ۱۲)، به خصوص به نظر می رسد که رژیم مدیترانه ای مانع از پیشرفت اختلال شناختی متوسط و تبدیل آن به بیماری آلزایمر می شود (۱۱). مطالعات زیادی در جوانان نشان داده اند که غذاهای غنی از پلی فنول ها، به خصوص، روغن زیتون بکر^۲ و آب انگور قرمز اختلال در یادگیری و حافظه وابسته به سن و بیماری را بهبود می بخشد و همچنین آسیب اکسیداتیو در مغز را کاهش می دهند (۱۳، ۱۴).

به ویژه تعداد زیادی از پلی فنول ها و سکونیریدوئیدها که در روغن زیتون یافت می شوند، شامل اولئوکانتال، هیدروکسی تیروزول و اولئوروپئین است که به طور قوی مسئول اثرات سلامت بخشی رژیم مدیترانه ای هستند (۱۵). اولئوروپئین ماده متشکله اصلی برگ و میوه زیتون می باشد که دارای اثرات مفیدی از جمله خاصیت آنتی اکسیدانی، اثرات ضد التهابی، ضد سرطانی و ضد آپوپتوزی می باشد (۱۶). گزارش ها حاکی از آن است که اولئوروپئین عملکرد شناختی را در مدل شبه آلزایمری در *C-elegans* و موش های TgCRND8 بهبود بخشیده و تجمع آمیلوئید β را کاهش داده است (۱۷، ۱۸). همچنین مطالعات زیادی نشان داده اند که پیش درمانی با اولئوروپئین دارای اثرات آنتی اکسیدانی و نوروپروتکتیو در مقابل آسیب ناشی از ایسکمی ریپرفیوژن (۱۹)،

بیماری آلزایمر^۱ یک بیماری نورودژنراتیو پیچیده و پیشرفته است که شایع ترین شکل دمانس و زوال عقل در دوران پیری می باشد و توسط کاهش حافظه و یادگیری، تکلم و دیگر اعمال شناختی شناخته می شود و با تخریب سیستم کولینرژیک basal forebrain، به خصوص در سال خورده ها در ارتباط می باشد (۱). پاتوفیزیولوژی AD پیچیده است و با کاهش گسترده تعداد نورون های مغز، رسوب پروتئین آمیلوئید بتا ($A\beta$) و گسترش پلاک های نوروتیک خارج سلولی و ظهور کلاف های داخل سلولی فیبریلار همراه می باشد که این اختلالات هیپوکمپ و بخش های سیستم لیمبیک و کورتکس را درگیر می کند (۲، ۳). همچنین استرس اکسیداتیو از علل غیرژنتیکی آلزایمر محسوب شده و منجر به ایجاد رادیکال آزاد می گردد که امکان تشکیل پلاک را در سیستم عصبی مرکزی افزایش می دهد (۴). از طرفی دیگر، در این بیماری اختلال در عملکرد میکروتوبول ها باعث وضعیت غیرعادی سیتواسکلتون می شود که در نتیجه منجر به اختلال در عملکرد شناختی می شود (۴، ۵).

مطالعات تجربی بر روی حیوانات نشان داده اند که در پی تزریق داخل مغزی کلشی سین اختلالاتی مشابه با بیماری آلزایمر از نوع اسپورادیک در یادگیری و حافظه ایجاد می گردد (۶). کلشی سین یک آلکالوئید گیاهی است که به جایگاهش روی توبولین متصل می شود و ساخت میکروتوبول را مختل می کند (۷). این عامل تخریب کننده میکروتوبول روی شکل و تکامل سلول و عملکرد نورونی از جمله انتقال آکسوپلاسمیک اثر می گذارد و همچنین تولید رادیکال آزاد و آسیب اکسیداتیو را افزایش می دهد. کلشی سین همچنین عملکرد نورون های کولینرژیک را کاهش داده و به عنوان یک مهارکننده قوی فرایندهای رفتاری شناخته شده است که باعث اختلال در عملکرد شناختی می شود (۸، ۹). بنابراین، تزریق مرکزی کلشی سین یک مدل

². extra virgin olive oil

¹. Alzheimer Disease

یعنی هیپوکامپ با توجه به مختصات اطلس پاکسینوز (AP: -3.8 mm, V: 3 mm, L: \pm 1.8 mm) به منظور نصب کانول ایجاد شد. به حیوان تحت مختصات دستگاه داروی مورد نظر (کلشی سین $15 \mu\text{g}/\text{rat}$) یا حلال کلشی سین (سالین $1 \mu\text{l}/\text{rat}$) تزریق شد (۲۴). کانول‌های راهنما ساخته شده از سرسوزن ۲۱ G مطابق مختصات نصب می‌شدند و درحالی‌که حیوان در دستگاه قرار داشت، تزریق دوطرفه کلشی سین انجام می‌شد. عمل تزریق به داخل ناحیه هیپوکامپ توسط کانول تزریق که از سرسوزن دندان پزشکی ۲۷ G ساخته می‌شد انجام می‌گرفت. دقایقی پس از خاتمه تزریقات داخل مغزی محل جراحی، ترمیم و بخیه می‌شد. آنگاه پس از بهوش آمدن حیوانات جراحی شده و بعد از اطمینان از حصول هوشیاری حیوان، آن‌ها به قفس خود در مرکز نگهداری حیوان منتقل شدند. حیوانات در شرایط استاندارد نگهداری و با آب و غذای کافی تغذیه شدند. اما جهت بررسی خصوصیت نوروپروتکتیو ال‌توروپتین، تزریق اولتوروپتین ($20, 10 \text{ mg}/\text{kg}/\text{day}$) یا حلال ۱۰ روز قبل از تزریق کلشی سین به صورت گاوژ به حیوان انجام می‌شد (۲۰-۲۶).

دوازده روز بعد از تزریق کلشی سین، موش‌ها تحت مطالعه رفتاری قرار گرفتند (۲۷). از روش یادگیری اجتنابی غیرفعال^۱ به منظور بررسی یادگیری و حافظه استفاده گردید. دستگاه یادگیری اجتنابی غیرفعال (ساخت ایران، شرکت برج صنعت) از دو بخش تاریک و روشن با ابعاد $20 \times 20 \times 30$ سانتی‌متر تشکیل شده است که توسط یک درب گیوتینی (9×7 سانتی‌متر) از هم جدا می‌شوند. در کف بخش تاریک نیز میله‌های فولادی با فاصله یک سانتی‌متر تعبیه شده و به وسیله یک کابل ارتباطی به استیمولاتور متصل است و شوک الکتریکی به وسیله این میله‌ها به دست و پای حیوان وارد می‌گردد.

یادگیری اجتنابی غیرفعال برای بررسی حافظه موش‌ها در دو روز متوالی انجام گرفت. روز اول، روز آموزش

استرس اکسیداتیو القا شده توسط کلشی سین در ناحیه هیپوکامپ مغز (۲۰) و پیری (۱۳) می‌باشد. در مطالعه دیگری دیده شده است که پیش‌درمانی با اولتوروپتین از آسیب اکسیداتیو القا شده توسط ایسکمی در میوکارد جلوگیری می‌کند (۲۱). اگرچه مکانیسم نوروپروتکتیو فنول‌های روغن زیتون به طور کامل مشخص نیست، اما به نظر می‌رسد که اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی این فنول‌ها، عامل اصلی خصوصیت نوروپروتکتیو آن باشند. الگوهای رفتاری متعددی برای سنجش حافظه و یادگیری در حیوانات آزمایشگاهی وجود دارد. مدل یادگیری اجتنابی غیرفعال به طور گسترده در مطالعات فارماکولوژیکی، برای بررسی حافظه طولانی‌مدت که در ایجاد آن هیپوکامپ یا ساختارهای جانبی مانند استریاتوم نقش دارند، مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۲، ۲۳). در این تحقیق از یادگیری اجتنابی غیرفعال step through به روش ورود به قسمت تاریک استفاده شد. با توجه به شواهد، هدف از این تحقیق، بررسی اثر اولتوروپتین به عنوان آنتی‌اکسیدان پیش از تجویز کلشی سین بر فرایندهای حافظه و یادگیری در موش‌های صحرایی با استفاده از تست یادگیری اجتنابی غیرفعال می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش، از رت‌های نر نژاد ویستار با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده گردید که در شرایط سیکل تاریکی و روشنی به صورت ۱۲ ساعته در قفس‌های چهارتایی نگهداری شدند. موش‌ها در گروه‌های شش‌تایی قرار داده می‌شد.

گروه‌ها شامل گروه کنترل، گروه کلشی سین، گروه کلشی سین + اولتوروپتین $10 \text{ mg}/\text{kg}$ و گروه کلشی سین + اولتوروپتین $20 \text{ mg}/\text{kg}$ بودند.

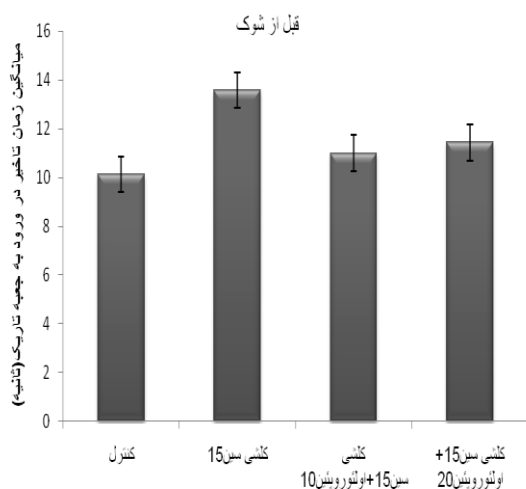
داروهای استفاده شده در این تحقیق، شامل کلشی سین (SDFCL, Indi) کلرال هیدرات (شرکت مرک) و اولتوروپتین (شرکت دانا کاسیان) می‌باشند.

به منظور جراحی، ابتدا حیوانات با کلرال هیدرات ($400 \text{ mg}/\text{kg}$, i.p) بیهوش شدند و با استفاده از دستگاه استرئوتکس جراحی شدند و دو حفره در محل مورد نظر

³. passive avoidance

یافته‌ها

مقایسه نتایج حاصل از آنالیز واریانس گروه‌ها نشان دادند که ۲۴ ساعت پس از اعمال شوک جهت یادگیری در دستگاه شاتل باکس، تأخیر زمانی برای اولین ورود به قسمت تاریک در موش‌های گروه کلشی سین-سالین، در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری داشت ($p < 0.01$) و همچنین میان گروه کلشی سین-سالین با گروه کلشی سین- اولئوروپئین 10 mg/kg و 20 mg/kg اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p < 0.001$) (نمودار ۲). مقایسه آنالیز واریانس بین گروه‌ها نیز نشان داد که بین گروه کنترل و کلشی سین-سالین اختلاف معنی‌داری در زمان سپری شده در قسمت تاریک، ۲۴ ساعت بعد از آموزش وجود دارد ($p < 0.05$) و این نشان می‌دهد که تخریب هیپوکامپ توسط کلشی سین باعث کاهش در حافظه احترازی غیرفعال می‌شود. همچنین بین گروه کلشی سین-سالین و مقادیر اولئوروپئین 10 mg/kg و 20 mg/kg نیز در زمان سپری شده در قسمت تاریک اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p < 0.05$) (نمودار ۳). اما مقایسه آنالیز واریانس این گروه‌ها نشان داد در میانگین زمان تأخیر در ورود به قسمت تاریک در ابتدای آموزش (قبل از اعمال شوک)، بین این گروه‌ها اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (نمودار ۱).



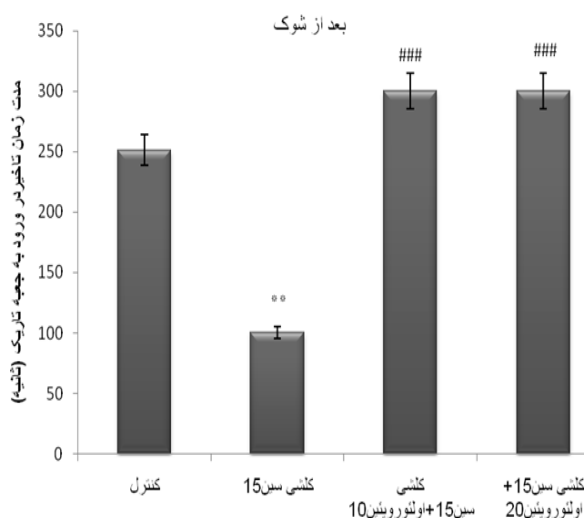
نمودار ۱. مقایسه میانگین زمان تأخیر در ورود به قسمت تاریک در ابتدای آموزش (قبل از شوک)

حیوان‌ها در دستگاه بوده و روز دوم، روز آزمون میزان حافظه حیوانات آموزش دیده بود بررسی می‌شود. به این ترتیب که موش را درحالی که پشتش به سمت درب گیوتینی بوده، در داخل اتاق روشن گذاشته شد و ۵ ثانیه بعد، درب گیوتینی باز شده و به حیوان اجازه داده می‌شود وارد بخش تاریک شود و بلافاصله بعد از ورود حیوان به داخل بخش تاریک درب گیوتینی بسته شده و بعد از ۱۰ ثانیه حیوان به قفس نگهداری برگردانده می‌شود. موش‌هایی که بیشتر از ۱۲۰ ثانیه در ورود به بخش تاریک تأخیر داشته باشند، از ادامه آزمایش حذف می‌گردند. پس از گذشت ۳۰ دقیقه، حیوان دوباره به بخش روشن دستگاه وارد و بعد از ۵ ثانیه درب گیوتینی باز شده تا حیوان وارد بخش تاریک شود. بعد از ورود کامل موش به ناحیه تاریک، به طوری که چهار پای آن وارد محفظه تاریک شود، در بسته شده و شوک الکتریکی با شدت 0.5 میلی آمپر به مدت ۲ ثانیه به کف پای حیوان اعمال گردید. مدت زمانی که طول می‌کشید تا موش از جعبه روشن به جعبه تاریک برود به عنوان زمان تأخیر در ورود به جعبه تاریک در ابتدای مرحله آموزش (قبل از اعمال شوک) می‌باشد که جهت کنترل توانایی بینایی و حرکتی به کار می‌رفت (۲۹). ۱۰ ثانیه پس از آن، حیوان از اتاق تاریک خارج و در قفس قرار داده شد. به منظور ارزیابی حافظه، ۲۴ ساعت بعد از دریافت شوک الکتریکی، حیوان دوباره در داخل اتاق روشن قرار داده شد و تأخیر زمانی برای اولین ورود به اتاق تاریک ثبت گردید (۷). سقف زمانی در این مرحله، ۳۰۰ ثانیه بود. طولانی تر بودن تأخیر زمانی برای اولین ورود به اتاق تاریک، نشانه یادگیری و حافظه بهتر بود. برای آنالیز نتایج مربوط به آزمون یادگیری اجتنابی غیرفعال از آزمون واریانس یک طرفه استفاده شد. آزمون LSD به منظور بررسی بیشتر انجام گرفت و $p < 0.05$ معنادار تلقی گردید.

بحث

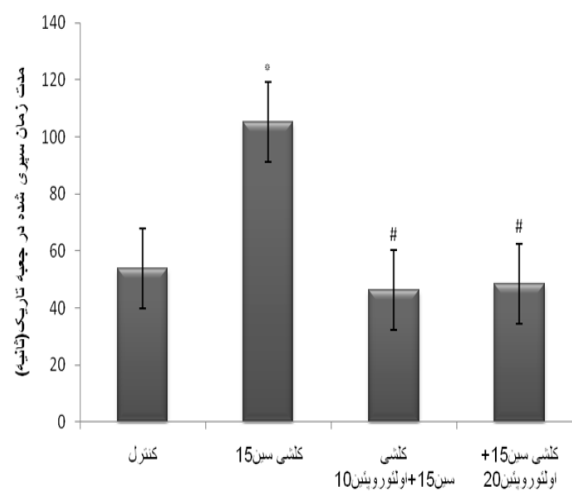
نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که تزریق داخل هیپوکامپی کلشی سین (15µg/rat) به‌طور معنی‌داری زمان تأخیر در ورود به اتاق تاریک را کاهش می‌دهد؛ درحالی‌که مدت زمان حضور در اتاق تاریک را به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل افزایش می‌دهد. این نتایج نشان می‌دهد که کلشی سین می‌تواند باعث تخریب یادگیری و حافظه اجتنابی غیرفعال شود. این اثرات با نتایج قبلی که تزریق کلشی سین به داخل ناحیه CA1 هیپوکامپ باعث کاهش حافظه می‌شود، مطابقت دارد (۱۰). همچنین در مطالعه دیگری نشان داده شده است که کلشی سین با تخریب میکروتوبول‌ها باعث کاهش یادگیری وابسته به دوز می‌شود (۷). کلشی سین به‌عنوان یک عامل تخریب‌کننده میکروتوبول، کسب یادگیری را از طریق تخریب فعالیت استیل کولین ترانسفراز قشری کاهش می‌دهد. تزریق مرکزی کلشی سین باعث افزایش تولید رادیکال آزاد و استرس اکسیداتیو و در نتیجه اختلال شناختی در حیوانات می‌شود (۹،۸). درحقیقت، تزریق مرکزی کلشی سین باعث افزایش نسبت GLU/GABA (۲۸) و تولید NOS در مغز می‌شود و باعث ایجاد استرس اکسیداتیو و آسیب نورونی می‌شود (۲۹-۳۱). نورون‌های حاوی NOS به‌طور نسبتاً وسیع، در بیماری آلزایمر یافت شده است. در مطالعه حاضر احتمالاً کلشی سین باعث تخریب نورون‌های CA1 هیپوکامپ و تخریب سیستم آنزیمی و توبولینی درگیر در انتقالات سیناپسی شده است. تشکیلات هیپوکامپ جزء اصلی سیستم‌های یادگیری مغز می‌باشد که تخریب دوطرفه آن اشکال جدی در حافظه مربوط به حوادث اخیر ایجاد می‌کند.

اولئوروپتین ترکیب بیواکتیو اصلی در برگ و میوه فراوری‌نشده زیتون می‌باشد که دارای اثرات فارماکولوژیکی سودمندی از جمله خصوصیات آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و نوروپروتکتیو می‌باشد (۱۶). مطالعات *in vitro* نشان داده است که عصاره برگ زیتون که ترکیب اصلی آن اولئوروپتین می‌باشد، دارای



نمودار ۲. مقایسه میانگین زمان تأخیر در ورود به قسمت تاریک ۲۴ ساعت بعد از آموزش و اعمال شوک (** $p < 0.01$, ### $p < 0.001$), $n = 6$.

* اختلاف معنی‌دار بین گروه کنترل با گروه کلشی سین - سالی‌ن را نشان می‌دهد. ### اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های کلشی سین - اولئوروپتین با گروه کلشی سین - سالی‌ن را نشان می‌دهد.



نمودار ۳. مجموع زمان سپری‌شده در قسمت تاریک ۲۴ ساعت بعد از آموزش (* $p < 0.05$, # $p < 0.05$), $n = 6$.

* اختلاف معنی‌دار بین گروه کنترل با گروه کلشی سین - سالی‌ن را نشان می‌دهد. # اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های کلشی سین - اولئوروپتین با گروه کلشی سین - سالی‌ن را نشان می‌دهد.

می شود (۳۴). اولئوروپئین این توانایی را دارد که از فیبریلایسیون پروتئین tau در *in vitro* جلوگیری کند (۳۵). اولئوروپئین همچنین مانع از تشکیل تجمع آمیلوئید β و سیتوتوکسیسیته آن به وسیله مهار تشکیل اولیگومرهای سمی می شود (۳۶). در مطالعه دیگری دیده شد که تزریق اولئوروپئین به داخل مغز، قادر به کاهش سمیت آمیلوئید β و التهاب می باشد (۳۷). همچنین تزریق اولئوروپئین پیش از ریپرفیوژن- ایسکمی ناحیه CA1 هیپوکامپ استرس اکسیداتیو ناشی از آن را کاهش داده است (۱۹). محققان نشان داده اند که اولئوروپئین همچنین می تواند اختلالات شناختی ناشی از aging را کاهش دهد (۱۳). در مطالعه ای دیگر اولئوروپئین آسیب اکسیداتیو در جسم سیاه در موش های پیر را توسط افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی کاهش داده است (۳۸).

این گزارش ها نتایج به دست آمده در این کار تحقیقاتی را تأیید می نماید؛ اما از آنجا که الئوروپئین دارای خصوصیات آنتی اکسیدانی و ضدالتهابی می باشد، برای مشخص کردن مکانیسم دقیق اثر نوروپروتکتیو آن مطالعات مجزایی مورد نیاز است. به طور کلی تحقیق حاضر نشان می دهد که الئوروپئین به صورت پیش درمانی قادر بوده است که کاهش زمان تأخیر در ورود به اتاق تاریک ناشی از تزریق مرکزی کلشی سین را بهبود بخشد و به مقدار کنترل برساند؛ بنابراین اولئوروپئین دارای اثرات مفیدی بر روی عملکرد مغزی می باشد و ممکن است در حفظ سلامت و درمان اختلالات ناشی از آلزایمر نقش داشته باشد.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله از مرکز تحقیقات گیاهان دارویی رازی دانشگاه علوم پزشکی لرستان و شرکت دانا کاسیان و همچنین از زحمات و راهنمایی های آقای دکتر بهرام رسولیان تشکر و قدردانی می گردد.

اثرات حفاظتی در برابر اپوپتوز القا شده توسط ۶- هیدروکسی دوپامین در سلول های PC12 می باشد. این نتایج پیشنهاد می کند که اولئوروپئین خصوصیات نوروپروتکتیو و احیا کننده نورونی دارد که می تواند برای درمان پارکینسون قابل توجه باشد (۳۲).

اثر مداخله گرانه (درمانی) اولئوروپئین بر روی رادیکال های آزاد ممکن است از طریق ایجاد گروه های هیدروکسیل و خنثی نمودن مستقیم رادیکال های آزاد اتفاق بیفتد. بسیاری از اثرات فارماکولوژیک اولئوروپئین به فعالیت آنتی اکسیدانی آن نسبت داده شده است (۱۶). عمل تداخل اولئوروپئین به وسیله تأمین گروه های هیدروسیل که مستقیماً رادیکال های آزاد را خنثی و دفع می کند اعمال می شود. در این تحقیق، مقایسه نتایج بین گروه های کلشی سین- سالین و کلشی سین- اولئوروپئین در زمان تأخیر ورود به قسمت تاریک و مدت زمان سپری شده در قسمت تاریک ۲۴ ساعت پس از آموزش نشان داد که اختلاف معنی داری وجود دارد و دوزهای ۱۰ mg/kg و ۲۰ mg/kg اولئوروپئین اختلال در حافظه حاصل از کلشی سین را بهبود بخشیده و زمان تأخیر را در تست احترازی غیرفعال افزایش داده است. این نتایج اثرات مثبت اولئوروپئین بر روند یادگیری اجتنابی غیرفعال تخریب شده توسط کلشی سین را تأیید می کنند؛ همچنین در مطالعه قبلی نشان داده شد که اولئوروپئین استرس اکسیداتیو ناشی از کلشی سین را در مدل شبه آلزایمری در موش را کاهش می دهد (۲۰). نقش اولئوروپئین به عنوان یک ترکیب نوروپروتکتیو همچنین در مدل های *in vitro* آلزایمر مطالعه شده است. شاخص های نوروپاتولوژیکی بیماری آلزایمر شامل تجمع پلاک های نوروتیک خارج سلولی (که از پپتیدهای آمیلوئید β تشکیل می شود) و کلاف های نوروفیبریلاری داخل سلولی (که ترکیب اصلی آن پروتئین tau هیپرفسفریله شده است) می باشد (۳۳). پپتیدهای آمیلوئید β تمایل به تجمع و تشکیل اولیگومرهای نوروتوکسیک دارد که آشناری از اتفاقات پاتولوژی را به راه می اندازد که منجر به مرگ سلولی

منابع

1. Auld DS, Kornecook TJ, Bastianetto S, Quirion R. Alzheimer's disease and the basal forebrain cholinergic system: relations to β -amyloid peptides, cognition, and treatment strategies. *Progress in Neurobiology* 2002; 68: 209-245.
2. Firuzi O, Praticò D. Coxibs and Alzheimer's disease: should they stay or should they go? *Ann Neurol* 2006; 59: 219-228.
3. McIlroy S, Craig D. Neurobiology and genetics of behavioural syndromes of Alzheimer's disease. *Current Alzheimer Research* 2004; 1: 135-142.
4. Markesbery WR. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. *Free Radical Biology and Medicine* 1997; 23: 134-147.
5. Whitehouse PJ, Price DL, Struble RG, Clark AW, Coyle JT, Delon MR. Alzheimer's disease and senile dementia: Loss of neurons in the basal forebrain. *Science* 1982; 215: 1237-1239.
6. Kumar A, Seghal N, Naidu PS, Padi SS, Goyal R. Colchicines-induced neurotoxicity as an animal model of sporadic dementia of Alzheimer's type. *Pharmacological Reports* 2007; 59: 274-283.
7. Nakayama T, Sawada T. Involvement of microtubule integrity in memory impairment caused by colchicine. *Pharmacology Biochemistry & Behavior* 2002; 71:119-138.
8. Veerendra Kumar MH, Gupta YK. Intracerebroventricular administration of colchicine produces cognitive impairment associated with oxidative stress in rats. *Pharmacology Biochemistry & Behavior* 2002; 73: 565-571.
9. Emerich DF, Walsh TJ. Cholinergic cell loss and cognitive impairments following intraventricular or intradentate injection of colchicine. *Brain Research* 1990; 517: 157-167.
10. Porkhodad S, Karami M, Jalali nadoushan MR. Positive effect of nitric oxide on morphine-induced place conditioning in wistar rats treated by colchicine intra-hippocampal CA1. *Journal of Clinical Toxicology* 2011.
11. Scarmeas N, Stern Y, Tang MX, Mayeux R, Luchsinger JA. Mediterranean diet and risk for Alzheimer's disease. *Annals of Neurology* 2006; 59(6):912-21.
12. Farr SA, Price TO, Dominguez LJ, Motisi A, Saiano F, Niehoff ML, et al. Extra virgin olive oil improves learning and memory in SAMP8 mice. *The Journal of Alzheimer's Disease* 2012; 1: 81-92.
13. Pitozzi V, Jacomelli M, Zaid M, Luceri C, Bigagli E, Lodovici M, et al. Effects of dietary extra-virgin olive oil on behaviour and brain biochemical parameters in ageing rats. *British Journal of Nutrition* 2010; 11: 1674-1683.
14. Valls-Pedret C, Lamuela-Raventos RM, Medina-Remon A, Quintana M, Corella D, Pinto X, et al. Polyphenol-rich foods in the Mediterranean diet are associated with better cognitive function in elderly subjects at high cardiovascular risk. *Journal of Alzheimer's Disease* 2012; 4: 773-782.
15. Pitt J, Roth W, Lacor P, Smith AB, Blankenship M, Velasco P, et al. Alzheimer's-associated Abeta oligomers show altered structure, immunoreactivity and synaptotoxicity with low doses of oleocanthal. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2009; 2: 189-197.
16. Omar SH. Oleuropein in olive and its pharmacological effects. *Scientia Pharmaceutica* 2010; 78(2):133-54.
17. Diomede L, Rigacci S, Romeo M, Stefani M, Salmona M. Oleuropein aglycone protects transgenic *C. elegans* strains expressing A β 42 by reducing plaque load and motor deficit. *PLoS One* 2013; 8(3):e58893.
18. Grossi C, Rigacci S, Ambrosini S, Ed Dami T, Luccarini I, Traini C, et al. The polyphenol oleuropein aglycone protects TgCRND8 mice against A β plaque pathology. *PLoS One* 2013; 8(8):e71702.
19. Dekanski D, Selaković V, Piperski V, Radulović Ž, Korenić A, Radenović L. Protective effect of olive leaf extract on hippocampal injury induced by transient global cerebral ischemia and reperfusion in Mongolian gerbils. *Phytomedicine* 2011; 18:1137-1143.
20. Pourkhodad S, Alirezaei M, Moghaddasi M, Ahmadvand H, Karami M, Delfan B, et al. Neuroprotective effects of oleuropein against cognitive dysfunction induced by colchicine in hippocampal CA1 area in rats. *The Journal of Physiological Sciences* 2016; 1-9.
21. Janahmadi Z, Nekooeian AA, Moaref AR, Emamghoreishi M. Oleuropein offers cardioprotection in rats with acute myocardial infarction. *Cardiovascular Toxicology* 2015;15(1):61-8.
22. Izquierdo I, McGaugh JL. Behavioural pharmacology and its contribution to the molecular basis of memory consolidation. *Behavioural Pharmacology* 2000; 11(7-8):517-34.
23. Izquierdo I, Medina JH. Memory formation the sequence of biochemical events in the hippocampus and its connection to activity in other brain structures. *Neurobiology of Learning and Memory* 1997; 68(3):285-316.
24. Kumar A, Sehgal N, Kumar P, Padi SS, Naidu PS. Protective effect of quercetin against ICV colchicine-induced cognitive dysfunctions and oxidative damage in rats. *Phytotherapy Research* 2008; 22:1563-1569.
25. Khalatbary AR, Ghaffari E, Mohammadnegad B. Protective Role of oleuropein against acute deltamethrin-induced neurotoxicity in Rat Brain. *Iranian Biomedical Journal* 2015;19(4):247-53.

26. Alirezaei M, Dezfoulian O, Neamati S, Rashidipour M, Tanideh N, Kheradmand A. Oleuropein prevents ethanol-induced gastric ulcers via elevation of antioxidant enzyme activities in rats. *The Journal of Physiology and Biochemistry* 2012; 68(4):583-92.
27. Nakagawa Y, Nakamura S, Kaše Y, Noguchi T, Ishihara T. Colchicine lesions in the rat hippocampus mimic the alterations of several markers in Alzheimer's disease. *Brain Research* 1987; 408(1-2):57-64.
28. Yu Z, Cheng G, Hu B. Mechanism of colchicine impairment on learning and memory, and protective effect of CGP 36742 in mice. *Brain Research* 1997; 750: 53-58.
29. Dufourny L, Leroy D, Warembourg M. Differential effects of colchicine on the induction of nitric oxide synthase in neurons containing progesterone receptors of the guinea pig hypothalamus. *The Brain Research Bulletin* 2000; 52:435-443.
30. Bondy SC. The relation of oxidative stress and hyperexcitation to neurological disease. *Proceedings of The Society for Experimental Biology and Medicine* 1995; 208: 337-345.
31. Wallis RA, Panizzon KL, Henry D, Wasterlain CG. Neuroprotection against nitric oxide injury with inhibitors of ADP-ribosylation. *Neuroreport* 1993; 5:245-248.
32. Pasban-Aliabadi H, Esmacili-Mahani S, Sheibani V, Abbasnejad M, Mehdizadeh A, Yaghoobi MM. Inhibition of 6-hydroxydopamine-induced PC12 cell apoptosis by olive (*Olea europaea* L.) leaf extract is performed by its main component oleuropein. *Rejuvenation Research* 2013; 16(2):134-42.
33. Lin MT, Beal MF. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Nature* 2006; 443(7113):787-95.
34. Dierssen M. Down syndrome: the brain in trisomic mode. *Nature Reviews Neuroscience* 2012; 13(12):844-58.
35. Daccache A, Lion C, Sibille N, Gerard M, Slomianny C, Lippens G, et al. Oleuropein and derivatives from olives as Tau aggregation inhibitors. *Neurochemistry International* 2011; 58(6):700-7.
36. Rigacci S, Guidotti V, Bucciantini M, Nichino D, Relini A, Berti A, et al. A β (1-42) aggregates into non-toxic amyloid assemblies in the presence of the natural polyphenol oleuropeinaglycon. *Current Alzheimer Research* 2011;8(8):841-52.
37. Luccarini I, Ed Dami T, Grossi C, Rigacci S, Stefani M, Casamenti F. Oleuropein aglycone counteracts A β 42 toxicity in the rat brain. *Neuroscience Letters* 2014; 558:67-72.
38. Sarbishegi M, Mehraein F, Soleimani M. Antioxidant Role of Oleuropein on Midbrain and Dopaminergic Neurons of Substantia Nigra in Aged Rats. *Iranian Biomedical Journal* 2014; 18:16-22.

The effect of oleuropein on passive avoidance memory in colchicine-induced rat model of Alzheimer's disease

Soheila Pourkhodadad^{1*}, Mehrnoosh Moghadasi Jahromi¹, Zahra Khanipour¹, Manizheh Karami²

1. Razi Herbal Medicines Research Center, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran.
2. Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Shahed University, Tehran, Iran.

*Corresponding author e-mail: s.porkhodadad@yahoo.com

Abstract

Background and Objective: Alzheimer's disease (AD) is a progressive neurodegenerative disease along with learning and memory disorders. Oleuropein is a phenolic compound with antioxidant and neuroprotective properties that reduces oxidative stress and improves cognitive function. The purpose of this study was to investigate the effect of oleuropein pretreatment on the colchicine-induced cognitive dysfunction using passive avoidance learning.

Materials and Methods: Adult male rats (200-250 g) were used in this study. Oleuropein (10 and 20 mg/kg, *p.o.*) was used for a period of 10 days prior to colchicine administration. On the tenth day of administration, the rats were bilaterally cannulated at the CA1 area. Colchicine (15 µg/rat) was bilaterally administered into CA1 area of the hippocampus. After one week of recovery, then their learning and memory levels were investigated through passive avoidance learning test. For assessment of retention memory after 24 hours, the interval between the placement in the light chamber and the entry into the dark chamber was measured as step through latency. Furthermore, the total time spent in the dark chamber was also measured.

Results: Administration of colchicine reduced the step through latency and augmented the time spent in the dark chamber. Administration of oleuropein (10 and 20 mg/kg) prior to colchicine (15 µg/rat) improved colchicine-induced cognitive impairment.

Conclusion: The results showed that oral administration of oleuropein improves learning and memory impairment induced by colchicine.

Keywords: Oleuropein, Alzheimer's disease, Colchicine, Passive avoidance memory, Hippocampus.