

بررسی اثر عصاره گیاه زیرفون (*Tilia platyphyllos*) بر به یادآوری حافظه در موش

های صحرائی نر بالغ مدل آلزایمری شده

مزگان شبیری^۱، اکرم عیدی^۲، پژمان مرتضوی^۳، شهربانو عریان^۴

- ۱- دانشجوی دکتری فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
- ۲- استاد گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. نویسنده مسئول: eiidi@srbiau.ac.ir
- ۳- دانشیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
- ۴- استاد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۰۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۲۲

چکیده

زمینه و هدف: درختان جنس *Tilia* در سراسر جهان به دلیل دارا بودن خواص دارویی مورد استفاده قرار می گیرند. گل های زیرفون (*Tilia platyphyllos*) به عنوان مدر، درمان دردهای شکمی و مسکن مورد استفاده قرار می گیرد. مواد موثره این گیاه شامل فلاونوئیدهای مختلف است. فلاونوئیدها دارای خاصیت آنتی اکسیدانی هستند. در این پژوهش، اثر تیمار عصاره اتانولی گیاه زیرفون بر میزان حافظه به دنبال تزریق درون بطنی استرپتوزوتوسین در موش های صحرائی بالغ نر نژاد ویستار بررسی گردید.

مواد و روش کار: موش ها به صورت تصادفی به ۹ گروه تقسیم شده اند: گروه کنترل سالم، گروه شم (تزریق درون بطنی سالین)، گروه تیمار خوراکی با عصاره گیاه زیرفون (۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، روزانه)، گروه کنترل آلزایمری (استرپتوزوتوسین، ۳ میلی گرم بر میلی لیتر، درون بطنی)، گروه دریافت کننده استرپتوزوتوسین و تیمار شده با عصاره گیاه زیرفون. تزریق استرپتوزوتوسین در حیوانات به صورت دو طرفه و در روزهای اول و سوم انجام شد. آزمون رفتاری حافظه توسط روش احترازی غیر فعال و ۲۸ روز پس از اولین دوز استرپتوزوتوسین انجام شد. میزان پارامترهای تاخیر زمانی در ورود (Step through latency, STL) و مدت زمان قرارگیری در اتاقک تاریک (Time in dark compartment, TDC) اندازه گیری گردید.

نتایج: نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تیمار عصاره گیاه زیرفون بصورت معنی داری موجب افزایش STL و کاهش TDC می شود.

نتیجه گیری: این نتایج نشان می دهد که عصاره گیاه زیرفون اثر حفاظتی بر حافظه و آسیب های نورونی القا شده توسط استرپتوزوتوسین را دارد.

کلمات کلیدی: زیرفون، حافظه، استرپتوزوتوسین، موش صحرائی

مقدمه

بیماری آلزایمر (Alzheimers Disease, AD)، بیماری تحلیل برنده عقلانی سیستم عصبی مرکزی انسان است. تغییرات متعددی در مغز انسان رخ می دهد که سبب از بین رفتن سلول های مغزی و کوچک شدن مغز می گردد. آلزایمر رایج ترین شکل زوال عقل است. این بیماری با از دست رفتن سیناپس های نورون ها در برخی مناطق مغز، نکروزه شدن سلول های مغز در مناطق مختلف سیستم عصبی، ایجاد ساختارهای پروتئینی کروی شکلی به نام پلاک های پیری در خارج نورون های برخی مناطق مغز و ساختارهای پروتئینی رشته هایی به نام Neurofibrillary tangles در جسم سلولی نورون ها مشخص می شود. علائم مشخصه آن از دست رفتن حافظه، قضاوت و استدلال و ایجاد تغییراتی در حالات و رفتار است. یکی از مشکلات زوال عقل بروز توهم و هذیان است (۱). این بیماری علاج ناپذیر، تحلیل برنده و مرگ آور را برای اولین بار روانپزشک و آسیب شناس عصب آلمانی آلوتیز آلزایمر در سال ۱۹۰۶ معرفی کرد و این نام از او گرفته شد (۲). دکتر آلویز آلزایمر در ۱۹۰۶ دو علامت از بیماری را توصیف نمود: پلاک ها، رسوبات متراکم ریز فراوان پراکنده شده در سرتاسر مغز که برای سلول های مغزی در سطوح اضافی سمی شده و گرهک ها یا کلافه های مارپیچی شکل (tangles) که توده های غیرطبیعی از فیبرها را در سیتوپلاسم نورون تشکیل می دهند که در ابتدا نورون های بزرگتر را درگیر می نمایند و در فرایندهای حیاتی دخالت کرده و در نهایت سلول های زنده را پر می کنند. زمانی که سلول های مغز تخریب شده و نابود شوند، مغز به طور چشمگیری در برخی نواحی کوچک می گردد. این کوچک شدگی مغز در طول زمان ادامه خواهد داشت. پروتئین تائو وابسته به میکروتوبول که دچار فسفریلاسیون غیر طبیعی شده است، ترکیب اصلی کلافه های نوروفیبریلاری را تشکیل می دهد. هیپرفسفریلاسیون

پروتئین تائو علت دیگری از بیماری آلزایمر است. تائو یک پروتئین داخل سلولی است که در تجمع میکروتوبول های داخل آکسونی نقش دارد (۳).

نمدار یا زیرفون (*Tilia platyphyllos*) درختی از تیره پنیرکیان (Malvaceae)، راسته پنیرک سانان (Malvales) است. در حدود ۳۰ گونه درخت در جنس نمدار وجود دارد (۴). از مواد موثره این گیاه می توان به فلاونوئیدهای مختلف مانند تیلی روزید، کورستین، ایزوکورستین، هایپروسید و روتین، آمینواسیدهای مختلف شامل آلانین و سیستئین اشاره کرد. فلاونوئیدها ترکیبات فنلی هستند که به طور گسترده در گیاهان توزیع شده اند و دارای خاصیت آنتی اکسیدانی هستند. فلاونوئیدها حتی در مقادیر بسیار ناچیز می توانند بدن را در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از رادیکال های آزاد اکسیژن محافظت کنند. در گل های زیرفون اسانس حاوی فARNسول وجود دارد و نیز شامل تانن و قند می باشد (۵). از نظر خواص این گیاه ضد تشنج، آرام کننده، معرق و مدر است. از گیاه زیرفون در طب سنتی استفاده می شود. این گیاه دارای تانن است که به عنوان قابض عمل می کند. از گل های زیرفون در سرماخوردگی، سرفه، تب، عفونت، التهاب، فشار خون بالا، سردرد (به خصوص میگرن)، به عنوان مدر، آنتی اسپاسم و مسکن مورد استفاده است. از برگ ها برای ایجاد تعریق در کاهش تب استفاده می شود. از چوب زیرفون در بیماری های کبد و کیسه صفرا و سلولیت استفاده می گردد (۶).

هدف از تحقیق حاضر، بررسی اثر عصاره گیاه زیرفون بر میزان به یادآوری حافظه در موش های آلزایمری شده توسط استرپتوزوتوسین است.

مواد و روش ها

گل گیاه زیرفون از عطاری خریداری شده و پس از شستشو و خشک شدن، توسط آسیاب به صورت پودر تبدیل شد. پودر گیاه با اتانول ۸۰٪ به مدت ۴ روز بر روی دستگاه

۷-۹. تجربی آلازایمری: حیوانات علاوه بر STZ، عصاره گیاه زیرفون را در دوزهای ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن روزانه یک بار از طریق گاوژ دریافت نمودند.

مدت تیمار عصاره در حیوانات ۲۸ روز و حجم تیمار ۰/۵ میلی لیتر بود. پس از انجام تیمار بر روی حیوانات آزمون احترازی غیرفعال با استفاده از دستگاه شاتل باکس انجام گردید.

دستگاه شاتل باکس دارای جعبه آموزش با دو محفظه روشن و تاریک می باشد که توسط دیواره عرضی از یکدیگر جدا شده اند. برای تحریک کف پای حیوان توسط جریان الکتریکی کف محفظه ها دارای میله های فلزی از جنس فولاد ضد زنگ به قطر ۲/۵ میلیمتر و با فاصله ۱ سانتیمتر از یکدیگر می باشد و میله های موجود در محفظه تاریک، یک در میان به قطب مثبت و منفی مربوط می شوند.

اساس آزمون احترازی غیرفعال (Passive Avoidance Learning) برقراری ارتباط بین دو محرک شرطی (نور) و غیرشرطی (شوک الکتریکی) می باشد که شامل جلسات زیر است:

جلسه عادت (Habitation Session): ابتدا به منظور عادت دادن، حیوان در بخش روشن دستگاه قرار گرفته و پس از گذشت مدت زمان ۱۰ ثانیه درب گیوتینی به آرامی باز می گردد. به محض ورود حیوان به بخش تاریک، درب گیوتینی بسته و حیوان از بخش تاریک دستگاه خارج می شود. این مرحله پس از گذشت مدت زمان ۳۰ دقیقه مجدداً تکرار می گردد. اگر حیوانی پس از گذشت مدت زمان ۱۰۰ ثانیه در هر یک از جلسات وارد بخش تاریک نگردد، در ادامه آزمایشات مورد استفاده قرار نمی گیرد.

جلسه آموزش (Training Session): پس از گذشت ۳۰ دقیقه، حیوان در بخش روشن دستگاه قرار گرفته و به

شیکر قرار گرفت تا عصاره گیری صورت گیرد. سپس عصاره توسط دستگاه روتاری خشک گردید.

موشهای صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن ۲۳۰-۲۰۰ گرم از انستیتو پاستور ایران خریداری شدند. موشها در اتاق حیوانات با حرارت 23 ± 2 درجه سانتی گراد و تحت دوره نوری ۱۲ ساعت تاریکی، ۱۲ ساعت روشنایی و دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند.

برای تزریقات داخل بطنی لازم است کانونولای بصورت دو طرفه در بطن های جانبی حیوان تثبیت گردد. ابتدا حیوان با استفاده از کتامین (۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) و زایلین (۸۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) بیهوش گردیده و در دستگاه استریوتاکسی قرار داده شد. پس از مشخص شدن نقاط برگما و لامبدا، بر اساس اطلس پاکسینوس کانونولا در مختصات ۰/۸ میلی متر در سمت خلفی، ۱/۶ میلی متر در جهت جانبی و ۳/۴ در جهت شکمی قرار گرفت. تزریق STZ با استفاده از سرنگ هامیلتون انجام شد.

تعداد ۶۶ سر موش صحرایی نر به صورت تصادفی در ۱۱ گروه ۶ تایی قرار داده شده اند:

۱. کنترل سالم: موشهای این گروه تحت عمل جراحی قرار نگرفتند.

۲. شاهد: حیوانات این گروه تحت عمل جراحی و کاشت کانونولا قرار گرفتند و ۳ میکرولیتر سالین در ناحیه بطنی به صورت دوطرفه تزریق شد.

۳-۵. تجربی سالم: حیوانات سالم که عصاره گیاه زیرفون را در دوزهای ۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن روزانه یکبار از طریق گاوژ دریافت نمودند (۷).

۶. کنترل آلازایمر: حیوانات این گروه تحت عمل جراحی و کاشت کانونولا قرار گرفتند و استریپتوزوتوسین در غلظت ۳ میلی گرم بر کیلوگرم با حجم ۳ میکرولیتر در هر بطن جانبی به صورت دوطرفه تزریق شد (۸).

افزار SPSS-21 تحلیل شدند. برای بررسی نتایج در گروه های مختلف از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. در تمام موارد اختلاف بین گروه ها با $p < 0.05$ معنی دار تلقی شده است.

نتایج

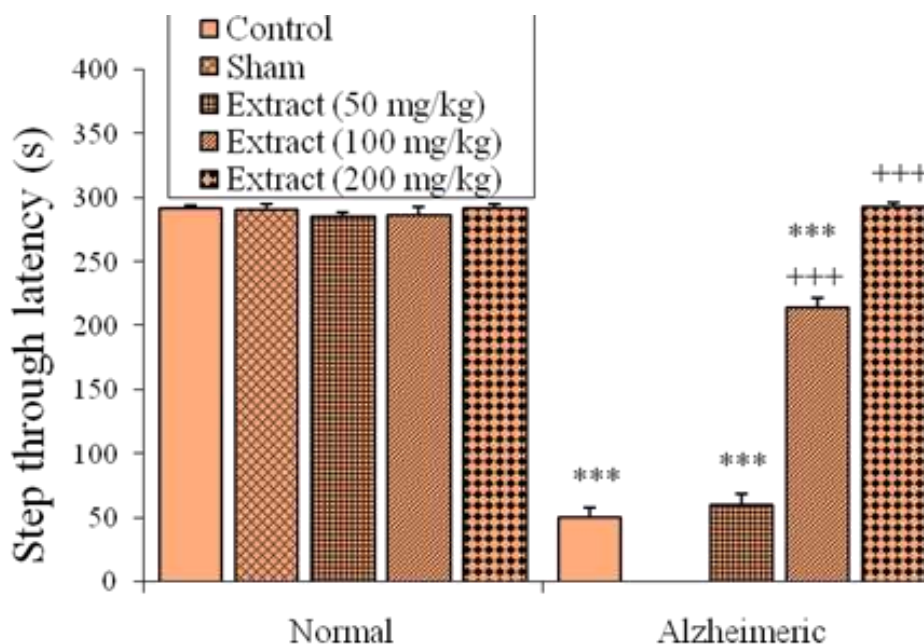
نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان STL در حیوانات آلزایمری شده نسبت به حیوانات کنترل سالم کاهش معنی داری یافته است. تیمار عصاره گیاه زیرفون در دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن افزایش معنی داری در میزان STL در حیوانات آلزایمری داشته است. تیمار عصاره گیاه زیرفون در دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن تغییر معنی داری در میزان STL در حیوانات سالم نداشته است. اختلاف معنی داری بین گروه شاهد و کنترل بر میزان STL دیده نشده است (نمودار ۱).

محض ورود حیوان به بخش تاریک، درب گیوتینی به آرامی بسته و شوک ملایمی به میزان ۱ میلی آمپر، مدت زمان ۱ ثانیه و شدت فرکانس ۵۰ هرتز به حیوان اعمال می شود. پس از گذشت مدت ۲۰ ثانیه، حیوان از بخش تاریک دستگاه خارج می گردد.

جلسه آزمون (Test Session): پس از گذشت ۲۴ ساعت، حیوان در بخش روشن دستگاه بدون ایجاد شوک قرار داده شد. درب گیوتینی از قبل باز بوده و کرده و تاخیر زمانی در ورود (Step through latency, STL) و مدت زمان قرارگیری در اتاقک تاریک (Time in dark compartment, TDC) در مدت ۳۰۰ ثانیه اندازه گیری گردید.

لازم به ذکر است که تمامی مراحل فوق در محدوده زمانی ۸ صبح تا ۱ بعدازظهر انجام می شود.

داده ها به صورت میانگین \pm خطای معیار از میانگین (Mean \pm SEM) بیان شده اند. نتایج با استفاده از نرم



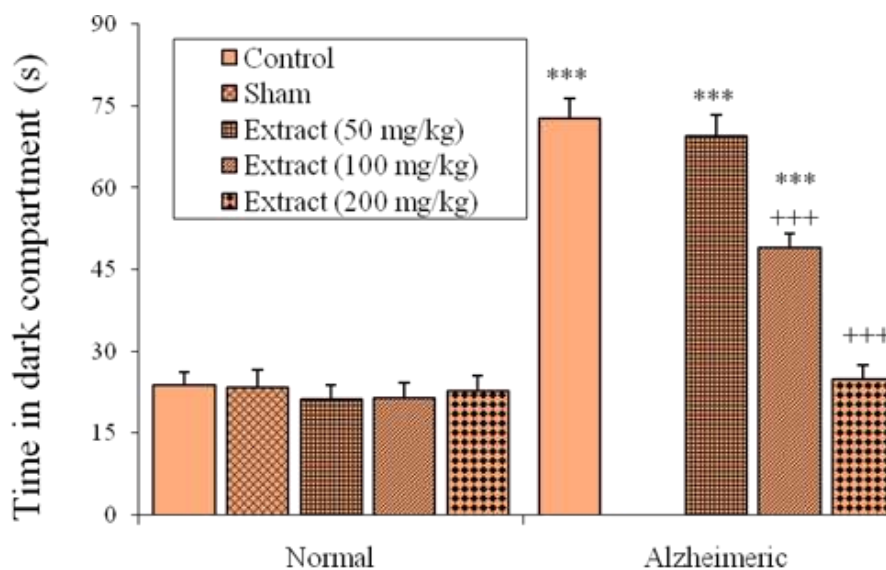
نمودار ۱- اثر تیمار عصاره گیاه زیرفون با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن بر میزان STL در حیوانات سالم و آلزایمری شده. تعداد موش ها در هر گروه ۶ سر می باشد. نتایج به صورت Mean \pm SEM ارائه شده است.

$***P < 0.001$ اختلاف نسبت به گروه کنترل سالم را نشان می دهد.

$+++P < 0.001$ اختلاف نسبت به گروه کنترل آلزایمری را نشان می دهد.

عصاره گیاه زیرفون در دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن تغییر معنی داری در میزان TDC در حیوانات سالم نداشته است. اختلاف معنی داری بین گروه شاهد و کنترل بر میزان TDC دیده نشده است (نمودار ۲).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که میزان TDC در حیوانات آلزایمری شده نسبت به حیوانات کنترل سالم افزایش معنی داری یافته است. تیمار عصاره گیاه زیرفون در دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن افزایش معنی داری در میزان TDC در حیوانات آلزایمری داشته است. تیمار



نمودار ۲- اثر تیمار عصاره گیاه زیرفون با دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن بر میزان TDC در حیوانات سالم و آلزایمری شده. تعداد موش ها در هر گروه ۶ سر می باشد. نتایج به صورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ ارائه شده است.

$P < 0.001$ *** اختلاف نسبت به گروه کنترل سالم را نشان می دهد.

$P < 0.001$ +++ اختلاف نسبت به گروه کنترل آلزایمری را نشان می دهد.

استیل کولین استراز را افزایش داده و منجر به تجزیه استیل کولین می شود (۱۰). استرپتوزوتوسین با القای مقاومت انسولینی در مغز موجب اختلال در پیام رسانی انسولین می شود. به طور مثال در هیپوکامپ سبب کاهش بیان ژن رسپتور انسولینی و آنزیم تجزیه کننده انسولین می شود که سرانجام این وضعیت با افزایش تجمع پلاک بتا آمیلوئید و افزایش فسفریله شدن پروتئین های تاؤ همراه خواهد بود (۱۱). استرپتوزوتوسین توان کاهش آزادسازی استیل کولین را دارد. این نوروترانسمیتر یکی از نوروترانسمیترهای مهم در شکل گیری حافظه است و کاهش میزان آن در مغز، در شکل گیری بیماری آلزایمر موثر است (۱۲). تزریق درون

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تزریق استرپتوزوتوسین در ناحیه بطنی به صورت دوطرفه موجب کاهش میزان حافظه در آزمون احترازی غیرفعال گردید. تزریق درون مغزی استرپتوزوتوسین باعث ایجاد پروتئین بتا آمیلوئید و تشکیل پلاک های آمیلوئیدی می شود و موجب بروز نقص در حافظه و اختلالات شناختی و بیماری آلزایمر می گردد. استرپتوزوتوسین از طریق ایجاد استرس اکسیداتیو موجب تغییر فعالیت میکروگلیاها و اختلال در میلین سازی در نواحی درگیر در روندهای شناختی، یادگیری و حافظه می شود (۹). تزریق درون بطنی استرپتوزوتوسین، فعالیت

عصاره گیاه زیرفون حاوی ترکیبات فنولی با خواص آنتی اکسیدانی و ضد التهاب است (۲۰). ترکیبات فلاونوئیدی موجود در گیاه زیرفون اثرات مطلوب بر روی حافظه و شناخت دارند و باعث مهار دژنراسیون نورونی در بیماری هایی مانند آلزایمر و پارکینسون می شوند. ترکیبات فلاونوئیدی موجود در گیاه زیرفون باعث بهبودی در حافظه می شود و همچنین به عنوان تعدیل کننده برای حافظه و یادگیری است (۲۱). گزارش شده است که گیاه زیرفون به دلیل داشتن خواص آنتی اکسیدانی در ترکیبات فلاونوئیدی خود باعث بهبود بیماری های مرتبط با سیستم عصبی مرکزی شده و در بهبود حافظه نقش دارد (۲۲). گیاهان با ترکیبات فلاونوئیدی باعث بهبود نقص های شناختی و دژنراسیون نورونی می شوند و این ترکیبات هم چنین دارای اثر محافظتی نورونی در نواحی مغز به خصوص در حافظه می شود (۲۳). فلاونوئید موجود در گیاه زیرفون دارای اثرات مطلوبی بر روی یادگیری و حافظه دارند (۲۴).

نتیجه گیری: نتایج تحقیق حاضر نشان می دهد که گیاه زیرفون به علت دارا بودن خواص آنتی اکسیدانی، اثرات درمانی بر بهبود حافظه در مدل موش آلزایمری دارد. احتمالا می توان از این گیاه برای درمان حافظه استفاده نمود.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله حاضر اعلام می نمایند که هیچ گونه تعارض منافی ندارند.

مغزی استرپتوزوتوسین منجر به افزایش پروتئین تائو و بتا آمیلوئید در مغز شده و افزایش بتا آمیلوئید موجب افزایش فرآیند التهاب و ایجاد رادیکال های آزاد می شود (۱۳). در راستای تحقیق حاضر تزریق استرپتوزوتوسین به داخل بطن های مغزی، در مدل احترازی غیر فعال در موش های آزمایشگاهی کاهش معنی داری در حافظه و یادگیری نشان داده است (۱۴). تزریق استرپتوزوتوسین به داخل بطن های مغز، باعث استرس اکسیداتیو در مغز رت ها می شود و باعث اختلالات شناختی و ناهنجاری های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی می شود و در نهایت منجر به بیماری آلزایمر می شود (۱۵). در تایید نتایج پژوهش حاضر تزریق استرپتوزوتوسین در رت ها بصورت معنی داری موجب کاهش STL و افزایش TDC می گردد (۱۶،۱۷).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تیمار عصاره اتانولی زیرفون موجب افزایش میزان حافظه در آزمون احترازی غیرفعال در موشهای آلزایمری گردید. گیاه زیرفون دارای ترکیبات فلاونوئیدی مختلف مانند کامپفرول، کوئرستین، ایزوکوئرستین، هایپروسید، روتین و آمینواسیدهای مختلف شامل آلانین و سیستئین می باشد. فلاونوئیدها ترکیبات فنلی هستند که دارای خاصیت آنتی اکسیدانی هستند و گزارش شده که حتی در مقادیر بسیار ناچیز می توانند بدن را در برابر آسیب اکسیداتیو ناشی از رادیکال های آزاد اکسیژن محافظت کنند. گل های زیرفون دارای اسانس حاوی فارنسول، تانن، موسیلاژ و قند می باشد (۱۸،۱۹).

فهرست منابع

1. Burns A, Iliffe S. Alzheimer disease. *BMJ* 2009; 338:158.
2. Todd S, Barr S, Roberts M, Passmore AP. Survival in dementia and predictors of mortality: a review. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2013;28(11):1109-24.

3. Kaledaite R, Bernatoniene J, Majiene D, Dvorackova K, Masteikova R, Muselik J, Kalveniene Z, Liobikas J, Savickas A. Investigation of antiradical activity of *Salvia officinalis* L., *Urtica dioica* L., and *Thymus vulgaris* L. extracts as potential candidates for a complex therapeutic preparation. *J Med Plants* 2011;5(25):6090-6.

4. Radoglou K, Dobrowolska D, Spyroglou G, Nicolescu VNA. Review on the ecology and silviculture of limes (*Tilia cordata* Mill., *Tilia platyphyllos* Scop. and *Tilia tomentosa* Moench.) in Europe. Journal of Land Management Food and Environment 2009; 60(3):9-20.
5. Herrera-Ruiz M, Roman-Ramos R, Zamilpa A, Tortoriello J, Jimenez-Ferrer J.E. Flavonoids from *Tilia americana* with anxiolytic activity in plus-maze test. J Ethnopharmacol 2008;118(2):312-7.
6. Hemmati Borujeni N, Eidi A, Mortazavi P, Oryan Sh. Effect of *Tilia platyphyllos* on cadmium chloride – induced testicular damage in adult male Wistar rats. Research in Medicine 2020;1:270-5.
7. Sheweita SA, Mashaly S, Newairy AA, Abdon HM, Eweda SM. Changes in oxidative stress and antioxidant enzyme activities in streptozotocin-induced diabetes mellitus in rats: role of Alhagi maurorum extracts. Oxid Med Cell Longev 2016;3:1-8.
8. Zhou S, Yu G, Chi L, Zhu J, Zhang W, Zhang Y. Neuroprotective effects of edaravone on cognitive deficit, oxidative stress and tau hyperphosphorylation induced by intracerebroventricular streptozotocin in rats. Neurotoxicology 2013;38:136-45.
9. Sokoloff L. Relation between physiological function and energy metabolism in the central nervous system. J Neurochem 1977;29(1):13-26.
10. Salkovic-Petrisic M, Knezovic A, Hoyer S, Riederer P. What have we learned from the streptozotocin-induced animal model of sporadic Alzheimers disease, about the therapeutic strategies in Alzheimers research. J Neural Transm. 2013;120(1):233-52.
11. Salkovic-Petrisic M, Tribl F, Schmidt M, Hoyer S, Riederer P. Alzheimer-like changes in protein kinase B and glycogen synthase kinase-3 in rat frontal cortex and hippocampus after damage to the insulin signaling pathway. J Neurochem 2006; 96(4):1005-15.
12. Shingo AS, Kanabayashi T, Kito S, Murase T. Intracerebroventricular administration of an insulin analogue recovers STZ-induced cognitive decline in rats. Behav Brain Res 2013;241:105-11.
13. Baluchnejadmojarad T, Roghani M. Effect of naringenin on intracerebroventricular streptozotocin-induced cognitive deficits in rat: a behavioral analysis. Pharmacology 2006;78(4):193-7.
14. Khalili M, Vaez Mahdavi M. The effect of oral feeding of *Withania somnifera* L. alcoholic extract on intracerebroventricular streptozotocin-induced cognitive deficits in male rat. Daneshvar Medicine. 2012;(99):1-11.
15. Lester-Coll N, Rivera EJ, Soscia SJ, Doiron K, Wands JR, de la Monte SM. Intracerebral streptozotocin model of type 3 diabetes: relevance to sporadic Alzheimer's disease. J Alzheimers Dis 2006; 9(1):13-33.
16. Shoham S, Bejar C, Kovalev E, Weinstock M. Intracerebroventricular injection of streptozotocin causes neurotoxicity to myelin that contributes spatial memory deficits to in rats. Exp Neurol 2003;184(2):1043-52.
17. Salehi I, Taher Aslani Z, Moradkhani S. Hydro-alcoholic extract of *Commiphora mukul* gum resin may improve cognitive impairments in diabetic rats. Avicenna J Med Biochem 2014;2(2):e24906.
18. Toker G, Aslan M, Yesilada E, Memisoglu M, Ito S. Comparative evaluation of the flavonoid content of officinal *Tilia Flos* and Turkish Lime species for quality assessment. J Pharm Biomed Anal 2001;26(1):111-21.
19. Rezaie A, Jafari B, Ahmadizadeh CH, Jalilzadeh Hedayati M, Ostadi Z, Ebadi AR, Shishegar R. Study of sedative preanaesthetic and anxiolytic effects of herbal extract of *Tilia platyphyllos* scop in comparison with diazepam in the rat. Vet. J. of Islamic Azad Uni. Tabriz Branch. 2011;5(1):1051-8.
20. Mendez M.F. Early onset Alzheimers disease: non amnesic subtypes and type2 AD. Arch Med Res 2012;43(8):677-85.
21. Rendeiro C, Guerreiro JD, Williams CM, Spencer JP. Flavonoids as modulators of memory and learning: molecular interactions resulting in behavioural effects. Proc Nutr Soc 2012;71(2):246-62.
22. Cárdenas-Rodríguez N, González-Trujano ME, Aguirre-Hernández E, Ruíz-García M, Sampieri A 3rd, Coballase-Urrutia E, Carmona-Aparicio L. Anticonvulsant and antioxidant effects of *Tilia americana* var.

mexicana and flavonoids constituents in the pentylenetetrazole-induced seizures. *Oxid Med Cell Longev* 2014;2014:329172.

23. Flanagan E, Müller M, Hornberger M, Vauzour D. Impact of flavonoids on cellular and molecular mechanisms underlying age-related cognitive decline and

neurodegeneration. *Curr Nutr Rep* 2018;7(2):49-57.

24. Vauzour D. Effect of flavonoids on learning, memory and neurocognitive performance: relevance and potential implications for Alzheimers disease pathophysiology. *J Sci Food Agric* 2014;94(6):1042-56.



The effect of Linden (*Tilia platyphyllos*) extract on memory retention in alzheimer model adult male rats

Mozhgan Shobeiri¹, **Akram Eidi**², Pejman Mortazavi³, Shahrbanoo Oryan⁴

1-PhD. Student, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2-Professor, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. Corresponding Author: eedi@srbiau.ac.ir

3-Associate Professor, Department of Pathology, Faculty of Specialized Veterinary Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

4- Professor, Department of Biology, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran.

Received:2024.02.28

Accepted: 2024.06.11

Abstract

Background and aim: Trees from *Tilia* species are used around the world for their medicinal properties. In folk medicine, the linden (*Tilia platyphyllos*) flower is used as a diuretic, stomachic, antispasmodic, and sedative agent. This plant has different flavonoids. Flavonoids have significant antioxidant activity. In the present study, the effect of linden ethanolic extract on memory retention induced by intracerebroventricular (ICV) of streptozotocin (STZ) was investigated in adult male Wistar rats.

Materials and methods: The rats were randomly divided into 9 groups: normal control, Sham-operated control (saline, ICV), linden extract (0.05, 0.1, and 0.2 g/kg intragastrically, daily) alone, Alzheimeric control rats (STZ, 110 mg/ml, 3 μ l/site, ICV), linden extract (0.05, 0.1, and 0.2 g/kg intragastrically, daily) together with STZ, and treatment was performed accordingly. Animals were injected with STZ bilaterally, on the 1st and 3rd days. Administration of linden extract (0.05, 0.1 and 0.2 g/kg) was started 1 h before the first dose of STZ and continued up to 28 days. The learning and memory behavior was assessed by a passive avoidance test 28 days after the first dose and step through Latency (STL) and time in the dark compartment (TDC) were measured by shuttle box.

Results: Our results showed that administration of linden extract (0.1 and 0.2 g/kg) significantly improved STZ-induced cognitive impairment. Linden extract decreased the levels of TDC, while increased STL levels.

Conclusion: These results indicate that linden extract is effective in providing protection against memory deficit and neuronal damage induced by STZ.

Keywords: Linden; *Tilia platyphyllos*; Memory; Streptozotocin; Rat