

بررسی اثر عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه اسطوخودوس بر روی نورون‌های پورکنژ تحت استرس شنای اجباری در موش‌های صحرایی نر با روش هیستولوژی و ایمونوهیستوشیمی

رحیم گل محمدی^۱، سیدمهدی بهشتی نصر^۲، فائزه اکبری^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: بر اساس جستجوهای انجام شده، در مورد تأثیر عصاره‌ی گیاه اسطوخودوس (Lavender) بر روی نورون‌های پورکنژ تحت استرس شنای اجباری مطالعه‌ای یافت نشد. از این رو، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی تأثیر عصاره‌ی گیاه اسطوخودوس بر روی نورون‌های پورکنژ تحت استرس شنای اجباری انجام شد.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی تجربی، ۵۰ سر موش صحرایی به صورت تصادفی به ۵ گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند ($n = 10$). چهار گروه تحت استرس شنای اجباری به ترتیب عبارت از گروه اول دریافت کننده‌ی نرمال سالین، گروه دوم، سوم و چهارم مورد عصاره‌ی اسطوخودوس با دزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به صورت گاوآژ به مدت ۱۴ روز دریا فت کردند. گروه پنجم، گروه شاهد (Intact) بود. پس از دوره‌ی درمان با بیهوشی عمیق، مخچه خارج و در فرمالین ثابت شد. با روش هیستولوژی و ایمونوهیستوشیمی، بررسی ریخت‌شناسی نورون‌ها انجام شد. داده‌ها با آزمون‌های Duncan و Scheff تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: میانگین تعداد نورون‌های سالم پورکنژ در حیواناتی که ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره‌ی اسطوخودوس می‌گرفتند، در مقایسه با سایر گروه‌های مورد که دزهای ۲۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم از این عصاره و یا نرمال سالین دریافت می‌کردند، افزایش معنی‌داری نشان داد ($P < 0.001$). شکل غیر طبیعی نورون‌های پورکنژ، متراکم شدن هسته، مشخص نبودن محدوده‌ی هسته از سیتوپلاسم، افزایش اسیدوفیلی و مثبت شدن نورون‌های پورکنژ با Caspase-3 در گروه تحت استرس شنای اجباری دریافت کننده‌ی نرمال سالین در مقایسه با سایر گروه‌ها بیشتر بود.

نتیجه‌گیری: مطالعه‌ی حاضر نشان داد که عصاره‌ی اسطوخودوس در دز ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم می‌تواند یک نقش محافظتی بر روی نورون‌های پورکنژ قشر مخچه‌ی موش‌های صحرایی تحت استرس شنای اجباری داشته باشد.

واژگان کلیدی: موش صحرایی، استرس فیزیولوژیک، عصاره‌ی اسطوخودوس، پورکنژ

ارجاع: گل محمدی رحیم، بهشتی نصر سیدمهدی، اکبری فائزه. بررسی اثر عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه اسطوخودوس بر روی نورون‌های پورکنژ تحت استرس شنای اجباری در موش‌های صحرایی نر با روش هیستولوژی و ایمونوهیستوشیمی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۸؛ ۳۷ (۵۵۵): ۱۳۴۶-۱۳۳۸

روحی- روانی و رفتاری (Psychological and behavioral) فرد را تحت تأثیر قرار دهند و اگر پیوسته و مداوم باشند، سلامتی فرد را به خطر خواهند انداخت (۳).

گزارش شده است که با افزایش سن، ایجاد استرس‌های اکسیداتیو می‌توانند عامل اختلال یادگیری و حافظه شوند (۴). همچنین، گزارش شده است که استرس‌ها بر روی فعالیت‌های مغز، روان و شبکه‌ی ایمنی بدن (Psyche-brain-immune network) تأثیر منفی می‌گذارند (۵). استرس‌های شدید، تغییراتی در واسطه‌های

مقدمه

هر عاملی که سیستم هوموستازی بدن را از حالت طبیعی خارج نماید، می‌تواند به عنوان یک عامل استرس‌زا عمل کند؛ هر چند که استرس‌ها متنوع می‌باشند (۱). یکی از انواع استرس‌های سلولی، استرس اکسیداتیو است که از عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (Reactive oxygen species یا ROS) در سلول‌ها و کافی نبودن پاسخ ظرفیت‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی بدن در مواجهه با آن‌ها می‌باشند (۲). استرس‌ها می‌توانند فعالیت‌های زیستی (Biologic)،

۱- دانشیار، گروه علوم تشریح، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران

۲- مربی، گروه فیزیولوژی- فارماکولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران

۳- دانشجوی پزشکی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران

نویسنده‌ی مسؤؤل: رحیم گل محمدی

Email: rahimgolmohammadi@yahoo.com

روی سلول‌های گرانولار مخچه انجام شده است، نشان می‌دهد که عصاره‌ی گیاه اسطوخودوس اثرات محافظتی بر روی نورون‌های لایه‌ی گرانولار مخچه داشته است (۱۷).

مطالعات Cardia و همکاران نشان می‌دهد که روغن اسطوخودوس بر روی موش‌های صحرایی که در معرض کاهش دمای محیط قرار گرفته اند، نقش ضد التهابی (Anti-inflammatory) دارد و این اثر را از طریق تنظیم چندین آنزیم داخل سلولی نظیر کاتالاز، سوپراکسیداز و دیسموتاز موجب شده است (۱۸).

یکی از روش‌های دقیق مطالعه‌ی ساختار سلول‌ها و بیان ژنومی آن‌ها، استفاده از روش ایمونوهیستوشیمی می‌باشد (۱۹). ایمونوهیستوشیمی، یک روش اختصاصی است که بر پایه‌ی آنتی‌ژن و آنتی‌بادی بافتی انجام می‌گیرد. از این روش، می‌توان در فرایند تمایز و تشخیص در تغییرات ساختار سلول‌های طبیعی از سلول‌های آسیب دیده استفاده نمود. برای تعیین نورون‌های آسیب دیده از نورون‌های طبیعی، می‌توان از نشانگرهای مختلفی استفاده کرد (۲۰) که معروف‌ترین نشانگر در این مورد، Caspase-3 می‌باشد (۲۱). نورون‌های پورکنز با هماهنگی بخش‌های دیگر سیستم عصبی مرکزی در اعمالی که نیاز به دقت و ظرافت بالایی می‌باشد، مشارکت دارند؛ علاوه بر این که در بیماری‌های نورودژنراتیو و آلزایمر، نورون‌های پورکنز درگیر می‌شوند. با توجه به گزارش‌هایی از نقش مثبت و مفید عصاره‌ی اسطوخودوس و نبود گزارش تأثیر این عصاره بر روی نورون‌های پورکنز قشر مخچه‌ی موش‌های صحرایی تحت تأثیر استرس شنای اجباری، پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر عصاره‌ی آبی - الکلی گیاه اسطوخودوس بر روی نورون‌های پورکنز موش‌های صحرایی نر تحت استرس شنای اجباری انجام شد.

روش‌ها

تهیه‌ی عصاره‌ی اسطوخودوس: اسطوخودوس، گیاهی است که نام علمی آن *Lavandula angustifolia* یا *Lavender* می‌باشد. اسطوخودوس، گیاهی چند ساله به ارتفاع نیم متر با برگ‌های باریک و سبز رنگ و پوشیده از گره‌های سفید رنگ پنبه‌ای از تیره‌ی نعنائیان (*Labiatae*) است که در ایران و ناحیه‌ی مدیترانه می‌روید. پس از تهیه‌ی بخش هوای گیاه اسطوخودوس، ۵۰۰ گرم از این گیاه با استفاده از آسیاب برقی پودر شد و دو لیتر محلول که شامل ۵۰۰ سی‌سی آب مقطر و ۱۵۰۰ سی‌سی اتانول ۸۰ درجه بود، خیسانده شد و سپس، به مدت ۴۸ ساعت در محیط تاریک قرار داده شد. بعد از جدا کردن تفاله‌ها از محلول، عصاره به دفعات صاف شد و در بن‌ماری ۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد خشک و در مراحل بعد اتوکلاو و در دمای زیر ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد در شرایط استریل خشک گردید.

شیمیایی را موجب می‌شوند که نتیجه‌ی آن، فرایند جمع‌آوری اطلاعات و ذخیره کردن آن‌ها را مختل می‌کنند (۶). استفاده از ترکیبات شیمیایی مانند اندوسولفین‌ها و بیسفنول، موجب افزایش نیتریک اکسید (NO)، NOS_{2A} می‌شود و افزایش فعالیت ROS همراه با کاهش NADPH را موجب می‌گردد (۷). همچنین، مواجهه با استرس‌های محیطی مختلف در دوران بارداری، می‌تواند بر رفتارهای فیزیولوژیک نظیر ساختار میکروآناتومی مخچه تأثیر بگذارد (۸).

بسته به نوع استرس، داروهای شیمیایی مختلفی وجود دارند که می‌توانند بر کاهش میزان استرس مؤثر باشند، اما دارای عوارض جانبی هستند و بعضی از آن‌ها، اثرات سمی (Neurotoxic) در فرایند تکامل مغز دارند (۹). بنابراین، استفاده از گیاهان دارویی که با شرایط زیستی بدن سازگارتر باشند، مفیدتر به نظر می‌رسد. یکی از این ترکیبات گیاهی که در درمان بیماری‌ها در طب سنتی مورد استفاده قرار می‌گیرد و همچنین، در کاهش استرس مؤثر است، عصاره‌ی گیاه اسطوخودوس می‌باشد (۱۰). استنشام رایحه‌ی گیاه اسطوخودوس، باعث کاهش سطح اضطراب هنگام زایمان، کاهش ترشح کورتیزول و افزایش سطح سروتونین می‌شود (۱۱).

عصاره‌ی گیاه اسطوخودوس نیز اثر مفیدی بر حافظه و کاهش استرس دارد (۱۲). اساس این گیاه بیش از ۲۵ نوع ماده‌ی مختلف دارد که مهم‌ترین آن‌ها عبارت از لینالیل استات، سیننول، لینالول، نرول و برنول و چندین ترکیب دیگر است که در عصاره‌ی گیاه اسطوخودوس وجود دارد. این ترکیبات، نقش اصلی کاهش دهنده‌ی اضطراب (Anxiolytic-like) و تنظیم بهبودی بد خواب (Insomnia) دارد (۱۳). نورون‌های پورکنز مخچه، بخشی از سیستم عصبی مرکزی هستند که در حفظ کشسانی عضلانی و انجام کارهای ظریف و دقیق بدن نقش اصلی را دارند (۱۴).

نورون‌های پورکنز قشر مخچه، بزرگ‌ترین سلول‌های عصبی قشر مخچه هستند که در بین لایه‌ی گرانولار در داخل و لایه‌ی مولکولار در خارج قرار گرفته‌اند. نورون‌های پورکنز از نوروترانسمیتر گابا که یک نقش مهمی دارند، استفاده می‌کنند. رشته‌های عصبی (Axon) نورون‌های پورکنز، بخشی از راه‌های خروجی مخچه را تشکیل می‌دهند که در بیماری‌های نورودژنراتیو درگیر می‌شوند (۱۵). مطالعه‌ی وکیلی و همکاران در موش‌های صحرایی پس از ایجاد ادم مغزی به دنبال ایجاد مدل تجربی یعنی ضربه‌ی مغزی (Stroke) از طریق انسداد در شریان مغزی میانی (Middle cerebral artery)، بروز ایسکمی و تأثیر نقش محافظتی روغن اسطوخودوس بر کاهش ادم مغزی در این مدل تجربی در این حیوانات را گزارش نموده است (۱۶). مطالعه‌ی دیگری که توسط Buyukokuroglu و همکاران بر

صورت مجزا از یکدیگر (دو سو کور) به ابعاد 8×8 میلی‌متر مربع شمارش و ثبت شد.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ (version 16, SPSS Inc., Chicago, IL) و آزمون One-way ANOVA و نیز آزمون Dunnett برای مقایسه‌ی میانگین گروه‌های تجربی با ضریب آلفای ۰/۰۵ برای میانگین داخل گروه‌های تجربی واکاوی گردید. از آزمون Scheffe برای میانگین‌های چندگانه استفاده شد (۲۶-۲۷).

ارزیابی ایمنووهیستوشیمی: پس از مقطع‌گیری ۵ میکرونی از ناحیه‌ی قشر مخچه با میکروتوم بر روی تعداد محدودی از لام‌ها با استفاده از روش معمول آویدن- بیوتین- ایمنوپراکسیداز، رنگ‌آمیزی اختصاصی انجام شد. مراحل انجام کار، دما و غلظت‌های آنتی‌بادی بر طبق دستور کیت (Roche) انجام شد؛ بدین ترتیب که پس از پارافین‌زدایی نمونه‌ها با گزلیل، ماسک‌زدایی محل شاخص‌های آنتی ژنیک با میکروویو بافر سیترات انجام گرفت. برای مهار فعالیت اندوژن پراکسیداز به مدت ۳۰ دقیقه در محلول ۳ درصد آب اکسیژنه قرار داده شد و بار دیگر، با بافر فسفات‌سالین لام‌ها شستشو داده شد. آنتی‌بادی Biotinylated (Rabbit anti- cleaved caspase 3) (antibody) محصول شرکت DAKO به شماره‌ی ۵۵۹۵۶۵، روی لام‌ها چکانده شد. از استرپتو آویدین متصل به HRP که قادر است دی‌آمینو بنزیدین (DAB) را اکسید کند، برای رنگ‌آمیزی هسته استفاده گردید. میکروسکوپ نوری بررسی و تصویر گرفته شد (۲۱). آزمون One-way ANOVA و نیز آزمون Dunnett برای مقایسه‌ی میانگین گروه‌های دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی اسطوخودوس بین گروه‌های مورد و شاهد و آزمون Duncan با ضریب آلفای ۰/۰۵ برای واکاوی میانگین داخل گروه‌های تجربی مورد استفاده قرار گرفتند.

یافته‌ها

یافته‌های تعداد نورون‌های سالم پورکنز در گروه‌های مورد و شاهد: میانگین تعداد نورون‌های سالم سلول‌های پورکنز قشر مخچه، به طور معنی‌داری در موش‌های تحت استرس با شنای اجباری که ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره‌ی اسطوخودوس دریافت کردند، بیشتر از گروه‌ی از موش‌های صحرائی بود که ۲۰۰ یا ۶۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره‌ی هیدروآلکلی اسطوخودوس دریافت می‌کردند ($P < 0/001$). میانگین تعداد نورون‌های سالم پورکنز قشر مخچه در گروه‌های مورد تحت استرس دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی اسطوخودوس نسبت به گروه دریافت‌کننده‌ی نرمال‌سالین به طور معنی‌داری بیشتر بود. میانگین تعداد نورون‌های پورکنز در موش‌های تحت استرس که ۴۰۰ میلی‌گرم/میلی‌لیتر اسطوخودوس دریافت

وزن عصاره‌ی خشک ۵۰ گرم شد؛ به طوری که غلظت نهایی ناشی از عصاره ۱۰ درصد بود. ۳۰۰ میلی‌گرم از پودر در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد تا ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول استوک تهیه شود. هر میلی‌لیتر از محلول استوک، حاوی ۳۰ میلی‌گرم از پودر عصاره‌ی اسطوخودوس بود که با دزهای مد نظر به موش‌های صحرائی گاوژ شد (۲۲-۲۳).

روش کار: این مطالعه‌ی تجربی بر روی موش‌های نر در محدوده‌ی وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم از حیوان‌خانه‌ی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار تهیه شد. پس از طی یک دوره‌ی ۳ روزه، حیوانات، دست‌آموز شدند. بعد از عادت در محیط جدید به پنج گروه ($n = 10$) تقسیم شدند که شامل چهار گروه مورد تحت استرس شنای اجباری و یک گروه شاهد (بدون استرس شنای اجباری و بدون دریافت عصاره‌ی اسطوخودوس) بودند. در گروه‌های مورد، گروه اول موش‌های صحرائی، تحت استرس شنای اجباری در طول دوره‌ی دو هفته (۱۴ روزه) بودند که هر روز نرمال‌سالین را به صورت گاوژ ۶۰ دقیقه قبل از اجرای شیوه‌نامه‌ی استرس شنای اجباری دریافت کردند.

روش اجرای شیوه‌نامه‌ی شنای اجباری بدین ترتیب بود که موش‌ها به منظور شنای اجباری، در یک مخزن استوانه‌ای شفاف پروپیلنی (ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر و قطر ۲۴ سانتی‌متر) حاوی آب با دمای ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و سطح ۳۰ سانتی‌متر به صورت جداگانه و به مدت روزانه ۴۵ دقیقه برای مدت ۱۴ روز (استرس شنای اجباری) قرار گرفتند (۲۴-۲۵).

گروه‌های دوم، سوم و چهارم موش‌های صحرائی عصاره‌ی اسطوخودوس را با دزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به صورت گاوژ به جای نرمال‌سالین دریافت نمودند (۲۵، ۱۷).

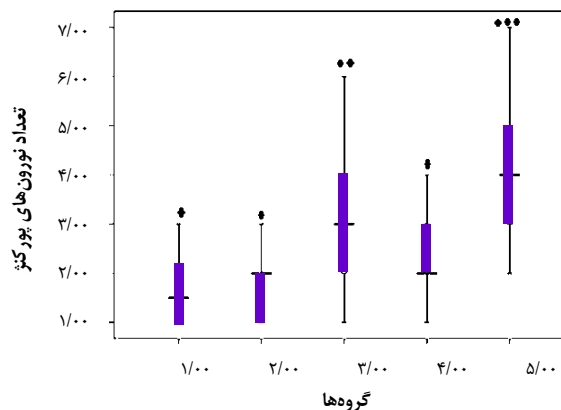
موش‌های صحرائی نر پس از پایان دوره‌ی درمان با تزریق داروی بی‌هوشی کتامین و رامپون (۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، داخل صفاقی) به طور عمیق بی‌هوش شدند. سپس، مجموعه‌ی موش‌های صحرائی برداشته شد و مخچه‌ی حیوان با احتیاط خارج و بلافاصله برای جلوگیری از اتولیز و هترولیز در داخل فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد. پس از پاساژ بافتی (Tissue processing) و قالب‌گیری در پارافین، مقطع‌گیری ۵ میکرونی به صورت کرونال و سریال انجام شد. مقاطع به صورت تصادفی انتخاب شدند. اسلایدها با هماتوکسیلین- اتوزین رنگ‌آمیزی و با میکروسکوپ نوری Motic و نرم‌افزار Advanced motic plus2 با بزرگ‌نمایی ۴۰، ۴۰۰ میدان دید میکروسکوپی یعنی ۱۰ اسلاید از هر گروه چهار میدان از هر لام به صورت تصادفی سیستماتیک انتخاب شد و تصویر گرفته شد. آن‌گاه، شمارش نورون‌های سالم بر روی مقاطع مخچه توسط دو نفر به

مثبت شدن نورون‌های پورکنژ با Caspase-3 یعنی رنگ قهوه‌ای نورون‌ها، ناشی از واکنش DAB با HRP می‌باشد که خود این واکنش، نشان دهنده‌ی آسیب نورون‌های پورکنژ و مرگ احتمالی این نورون‌های عصبی ناشی از استرس اجباری است. رنگ‌پذیری سلول‌های عصبی بزرگ مخچه یعنی مثبت شدن نورون‌های پورکنژ با Caspase-3 بیشتر در گروهی از موش‌های تحت استرس شنای اجباری مشاهده شد که بعد از استرس شنای اجباری، نرمال‌سالین دریافت می‌کردند. در گروه بدون استرس (شاهد) نورون‌های پورکنژ با Caspase-3 واکنش مثبت مشاهده نشد (شکل ۳).

میانگین تعداد نورون‌های سالم پورکنژ موش‌های صحرایی تحت استرس شنای اجباری که دز ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره‌ی اسطوخودوس را دریافت می‌کردند، نسبت به گروه‌هایی که ۲۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم از این عصاره دریافت می‌کردند، به طور معنی‌داری بیشتر بود ($P < 0/001$). میانگین نورون‌های سالم پورکنژ در موش‌های صحرایی نر گروه شاهد (بدون استرس) در مقایسه با گروه‌های تحت استرس ۱، ۲ و ۴ به طور معنی‌داری بیشتر بود ($P < 0/001$). میانگین تعداد نورون‌های پورکنژ در گروه ۳ که ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره‌ی اسطوخودوس دریافت می‌کردند، هر چند در مقایسه با گروه شاهد کمتر بود، اما از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P > 0/050$).

میانگین تعداد نورون‌های سالم پورکنژ در موش‌های صحرایی تحت استرس شنای اجباری در گروه مورد ۳ (۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره) به طور معنی‌داری ($P < 0/001$) بیشتر از گروه‌های مورد ۱ (نرمال‌سالین)، ۲ (۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره) و ۴ (۶۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره) بود. بین میانگین تعداد نورون‌های سالم پورکنژ در گروه مورد ۳ با گروه شاهد ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد ($P < 0/050$)؛ به گونه‌ای که میانگین تعداد نورون‌های سالم در گروه تحت استرس که ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره‌ی اسطوخودوس دریافت می‌کردند، هر چند که از گروه شاهد کمتر بود، اما در مقایسه با سایر گروه‌های مورد نزدیک به گروه شاهد بود.

کردند، نسبت به گروه شاهد (سالم) کمتر بود، اما این اختلاف معنی‌دار نبود ($P > 0/050$). کمترین میانگین تعداد نورون‌های سالم پورکنژ در گروه مورد تحت استرس شنای اجباری بود که نرمال‌سالین به آن‌ها گاوژ می‌شد (جدول ۱ و شکل ۱).

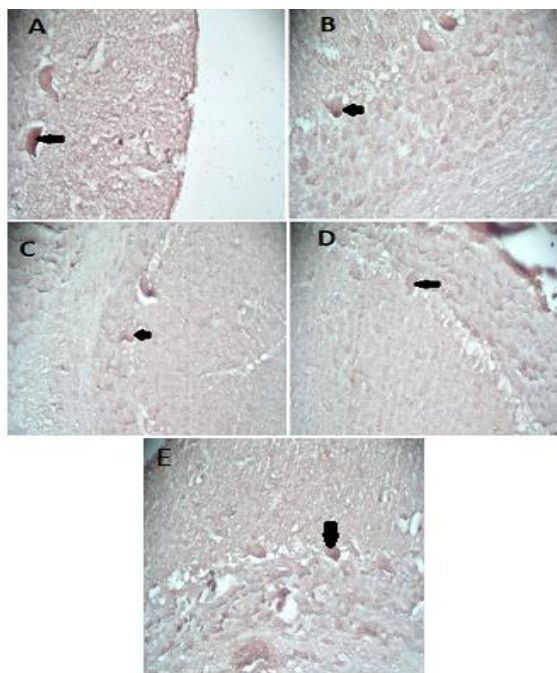


شکل ۱. میانگین و انحراف معیار نورون‌های پورکنژ در گروه‌های مورد مطالعه در موش‌های صحرایی نر تحت استرس شنای اجباری و سالم^۱: گروه‌های مورد ۱ (نرمال‌سالین)، ۲ (۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره) و ۴ (۶۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره)^۲: گروه مورد ۳ (دز ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره)^۳: گروه شاهد (بدون استرس و عدم دریافت عصاره)

یافته‌های ریخت‌شناسی و ایمونوهیستوشیمی: تغییرات ریخت‌شناسی مانند متراکم شدن هسته، تغییر مکان هسته از مرکز به محیط، شکل‌های غیر طبیعی، مشخص نبودن محدوده‌ی هسته از سیتوپلاسم و اسیدوفیلی زیاد سلول‌های پورکنژ در گروه تحت استرس شنای اجباری دریافت‌کننده‌ی نرمال‌سالین در مقایسه با گروه دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی اسطوخودوس بیشتر مشاهده شد. بیان مثبت Caspase-3 در موش‌های صحرایی نر بالغ تحت استرس که ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره‌ی گیاه اسطوخودوس را دریافت می‌کردند، نسبت به گروهی که ۲۰۰ یا ۶۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره‌ی اسطوخودوس دریافت می‌کردند، کمتر مشاهده شد (شکل ۲).

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار نورون‌های سالم پورکنژ در گروه‌های مورد مطالعه در موش‌های صحرایی نر تحت استرس شنای اجباری و سالم

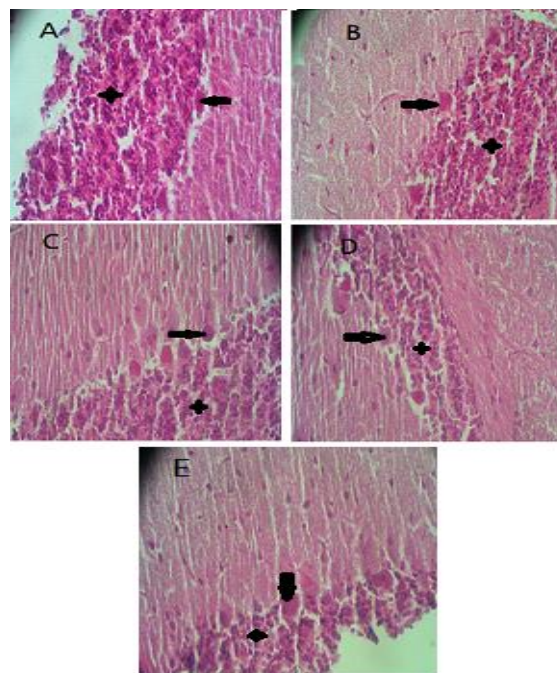
| گروه | تعداد نورون‌های سالم | | میانگین \pm انحراف معیار |
|--|----------------------|----------|----------------------------|
| | حد بالا | حد پایین | |
| گروه مورد ۱ (تحت استرس + نرمال‌سالین) | ۱/۸۱۴۸ | ۱/۳۸۵۲ | ۱/۶۰۰۰ \pm ۰/۶۷۱۷۸ |
| گروه مورد ۲ (تحت استرس + ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره‌ی اسطوخودوس) | ۲/۱۰۶۲ | ۱/۶۴۳۸ | ۱/۸۷۵۰ \pm ۰/۷۲۲۸۰ |
| گروه مورد ۳ (تحت استرس + ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره‌ی اسطوخودوس) ^{**} | ۳/۶۰۴۷ | ۲/۸۴۵۳ | ۳/۲۲۵۰ \pm ۱/۱۸۷۲۷ |
| گروه مورد ۴ (تحت استرس + ۶۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره‌ی اسطوخودوس) | ۲/۴۶۳۷ | ۱/۸۸۶۳ | ۲/۱۷۵۰ \pm ۰/۹۰۲۶۳ |
| گروه شاهد (بدون استرس و بدون عصاره اسطوخودوس) | ۴/۱۹۵۰ | ۳/۳۰۵۰ | ۳/۷۵۰۰ \pm ۱/۳۹۱۳۷ |



شکل ۳. مقطع کروئال ۵ میکرونی کروئال از قشر مخچه‌ی موش‌های صحرائی با روش ایمونوهیستوشیمی.

تصویر A، مربوط به نورون‌های پورکنژ قشر مخچه تحت استرس شنای اجباری که نرمال‌سالیین دریافت می‌کردند، نشان می‌دهد. نورون پورکنژ با شکل غیر طبیعی و مثبت شدن با Caspase-3 را نشان می‌دهد. تصویر B، مربوط به گروهی از موش‌های صحرائی است که تحت استرس شنای اجباری بودند و دز ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره‌ی اسطوخودوس دریافت می‌کردند. کاهش رنگ‌پذیری این نورون‌ها را نسبت به گروه مورد ۱ که نرمال‌سالیین دریافت می‌کردند نشان می‌دهد. تصویر C، مربوط به موش‌های صحرائی تحت استرس شنای اجباری را که دز ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره‌ی اسطوخودوس دریافت می‌کردند، نشان می‌دهد. تصویر D، مربوط به موش‌های صحرائی گروه شاهد یعنی بدون استرس شنای اجباری و بدون دریافت عصاره‌ی اسطوخودوس (مخچه‌ی طبیعی) می‌باشد. تصویر E، مربوط به موش‌های گروه تحت استرس شنای اجباری را که ۶۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره‌ی اسطوخودوس دریافت کردند، نشان می‌دهد. پیکان‌ها، نورون‌های پورکنژ قشر مخچه با رنگ‌پذیری شدید، خفیف و بدون رنگ‌پذیری با Caspase-3 را نشان می‌دهد (بزرگ‌نمایی ۴۰۰x).

پژوهش حاضر با مطالعه‌ی پیش‌گفته هم‌خوانی دارد. هر چند که روش مطالعه‌ی حاضر با مطالعه‌ی آنان تفاوت دارد؛ چرا که در مطالعه‌ی حاضر اثرات عصاره‌ی هیدروالکلی اسطوخودوس بر روی نورون‌های پورکنژ قشر مخچه‌ی موش‌های صحرائی نر تحت استرس شنای اجباری انجام شده است؛ در حالی که در مطالعه‌ی Buyukokuroglu و همکاران نقش محافظتی عصاره‌ی اسطوخودوس در محیط کشت بر روی نورون‌های لایه‌ی گرانولار موش‌های صحرائی انجام شده است (۱۷). افزایش بقای نورون‌های پورکنژ ارتقای کمی و کیفی و بهبود تنظیم عملکرد تعادل حرکتی و حسی را در پی دارد. در گزارشی که توسط وکیلی و همکاران در موش‌های صحرائی پس از ایجاد ادم مغزی به دنبال ایجاد مدل



شکل ۴. مقطع ۵ میکرونی کروئال از قشر مخچه‌ی موش‌های صحرائی که تحت استرس شنای اجباری، نرمال‌سالیین و دزهای متفاوتی از عصاره‌ی هیدروالکلی اسطوخودوس قرار گرفتند، بر اساس رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-انوزین.

تصویر A، متراکم شدن هسته در نورون‌های پورکنژ مخچه و اسیدوفیلی سلول‌های پورکنژ و لایه‌ی گرانولار را در گروهی از موش‌های صحرائی که تحت استرس شنای اجباری بودند و نرمال‌سالیین دریافت کردند، نشان می‌دهد. تصویر B، مقطع عرضی از قشر مخچه‌ی گروه تحت استرس شنای اجباری که ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره‌ی اسطوخودوس دریافت کردند، نشان می‌دهد. تصویر C، کم شدن اسیدوفیلی و کاهش تراکم هسته‌ی سلول‌های پورکنژ در گروهی از موش‌های صحرائی که ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره‌ی اسطوخودوس دریافت کردند، نشان می‌دهد. تصویر D، مربوط به گروه کنترل است؛ یعنی موش‌هایی که بدون استرس، شنای اجباری و بدون دریافت عصاره‌ی اسطوخودوس (مخچه‌ی طبیعی) بودند. تصویر E، مربوط به گروه تحت استرس شنای اجباری که ۶۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره‌ی اسطوخودوس دریافت می‌کردند، نشان می‌دهد. ستاره‌ها، لایه‌ی گرانولار قشر مخچه را نشان می‌دهند. پیکان‌ها نورون‌های پورکنژ قشر مخچه با درجات مختلف رنگ‌پذیری شدید با هماتوکسیلین-انوزین را نشان می‌دهد (بزرگ‌نمایی ۴۰۰x).

بحث

در مطالعه‌ی حاضر، میانگین تعداد نورون‌های سالم پورکنژ قشر مخچه به طور معنی‌داری در موش‌های صحرائی نر تحت استرس شنای اجباری که عصاره‌ی هیدروالکلی اسطوخودوس می‌گرفتند، بیشتر از گروهی از موش‌های صحرائی بود که سرم فیزیولوژی می‌گرفتند. مطالعه‌ی Buyukokuroglu و همکاران که بر روی نورون‌های لایه‌ی گرانولار قشر مخچه انجام شده است، نشان می‌دهد که عصاره‌ی گیاه اسطوخودوس تأثیر محافظتی بر روی نورون‌های لایه‌ی گرانولار مخچه دارد (۱۷).

مطالعه‌ی Cardia و همکاران، نشان می‌دهد که روغن اسطوخودوس نقش ضد التهابی (Anti-inflammatory) دارد (۱۸). این اثر از طریق تنظیم چندین آنزیم داخل سلولی نظیر کاتالاز، سوپراکسیداز و دیسموتاز موجب شده است نتیجه‌ی مطالعه‌ی حاضر با مطالعه‌ی پیش‌گفته هم‌خوانی دارد؛ هر چند که روش‌های مطالعه‌ی حاضر با مطالعه‌ی پیش‌گفته تفاوت دارد؛ چرا که در مطالعه‌ی حاضر، اثر عصاره‌ی اسطوخودوس بر روی نورون‌های پورکنژ موش‌های بالغ صحرایی تحت استرس شنای اجباری بررسی شده است؛ در حالی که در مطالعه‌ی Cardia، نقش عصاره‌ی اسطوخودوس بر روی موش‌های صحرایی که در معرض کاهش دمای محیط قرار گرفته‌اند، انجام شده است. مطالعه‌ی Arzi و همکاران در مورد موش‌های در معرض نیکوتین که موجب تشنج در آن‌ها شده است، عصاره‌ی هیدروالکلی اسطوخودوس بر روی آن‌ها اثر ضد تشنجی داشته است (۲۹). این مطالعه از دو جنبه با مطالعه‌ی حاضر قابل مقایسه می‌باشد؛ اول این که در روش کار مطالعه‌ی حاضر، موش‌ها تحت استرس و در مطالعه‌ی Arzi و همکاران (۲۹) موش‌ها تحت تأثیر نیکوتین قرار گرفتند. دوم این که از ایفای نقش مثبت عصاره‌ی اسطوخودوس در هر دو مطالعه، اما در دو مکان متفاوت در سیستم عصبی مرکزی می‌توان یاد کرد.

مطالعه‌ی عباسی ملکی و همکاران، بر روی موش‌های سوری نشان می‌دهد که عصاره‌ی اسطوخودوس در دزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم، موجب کاهش مدت زمان بی‌حرکتی در گروهی از موش‌ها که عصاره‌ی اسطوخودوس می‌گرفتند، در مقایسه با گروه شاهد گردید (۲۴). از نظر نتیجه، این مطالعه با پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد. هر چند که در روش کار با یکدیگر تفاوت دارند.

در مطالعه‌ی عبدانی پور و همکاران بر روی موش‌های صحرایی، مشاهده شد که عصاره‌ی اسطوخودوس میزان آپوپتوز القا شده توسط اتانول را در مقایسه با گروه شاهد کاهش داد (۳۰). به نظر می‌رسد که بخش روغنی و پلی‌فنلی عصاره‌ی اسطوخودوس دارای اثرات ضد التهابی است و احتمال می‌رود همین بخش در کاهش التهاب و آسیب نورون‌های پورکنژ مخچه مؤثر بوده است. گزارش کاهش تعداد نورون‌های سالم قشر مخچه به هر عللی که ایجاد شده باشد، از نظر بالینی مهم است؛ چرا که مقدمه‌ی افزایش مشکلات عصبی همچون بیماری فراموشی (Alzheimer's disease) را می‌تواند به دنبال داشته باشد (۳۱). نورون‌های مخچه نیز یکی از نواحی مهم در دستگاه عصبی مرکزی (Central nerve system یا CNS) می‌باشد که در بیماری Alzheimer درگیر می‌شود و در نهایت، منجر به کاهش عمر مفید در انسان می‌گردد. هر چند این فرایند مطالعات بیشتری را می‌طلبد؛ چرا که بیماری فراموشی یک مشکل جهانی است، به ویژه

ضربه‌ی مغزی Stroke انجام شده است، نقش محافظتی روغن اسطوخودوس بر روی ادم مغزی ناشی از ایسکمی را ذکر می‌کند که احتمال می‌رود این اثر، از طریق بیان واکنش‌های استرسی (Inhibiting oxidative stress) ایجاد شده است (۱۶).

مطالعه‌ی Oskouie و همکاران نشان می‌دهد که در موش‌های صحرایی مبتلا شده به بیماری آلزایمر (Models of Alzheimer's disease) توسط آمیلوئید بتا عصاره‌ی اسطوخودوس از طریق تغییر در متابولیسم پنتوتنات (Pantothenate)، متابولیسم CoA، گلیکوزیلات، دکربوکسیلات، آسپارات و گلوتامات تا حد زیادی باعث بهبودی و برگشت بیماری آلزایمر القا شده گردید (۲۷).

در مطالعه‌ی حاضر، میانگین تعداد نورون‌های سالم پورکنژ قشر مخچه در موش‌های صحرایی گروه مورد که عصاره‌ی اسطوخودوس دریافت می‌کردند، بیشتر از گروهی از موش‌های صحرایی مورد تحت استرس بود که سرم فیزیولوژی دریافت می‌کردند. احتمال می‌رود که افزایش میانگین نورون‌های سالم در موش‌های صحرایی تحت استرس که عصاره‌ی اسطوخودوس به جای نرمال‌سالین می‌گرفتند، ناشی از کم شدن استرس شنای اجباری و کاهش اثر ضد التهابی بخش روغنی عصاره‌ی اسطوخودوس بر روی نورون‌های پورکنژ مخچه بوده است. احتمال دیگر این است که با توجه به این که نورون‌های سیستم عصبی مرکزی اغلب از گلوکز تغذیه می‌کنند. بنابراین، تغییرات در برگرداندن متابولیسم چرخه‌ی فسفوریلاسیون اکسیداتیو گلوکز در میتوکندری و سایر ترکیبات واسطه‌ی این مسیر را در شرایط استرس بر روی نورون‌ها طوری تنظیم نموده است که در نتیجه منجر به کاهش استرس بر روی نورون‌ها شده است.

به طور کلی، می‌توان گفت که کاهش آسیب نورون‌های پورکنژی بیشتر ناشی از تأثیر خاصیت ضد اکسیدانی (Anti oxidant) و ضد التهابی (Anti inflammation) عصاره‌ی اسطوخودوس بوده است. گزارش‌های دیگر، نشان می‌دهد که روغن گیاه اسطوخودوس موجب کاهش واکنش‌های استرسی در نوزادان و افزایش خواب در آن‌ها شده است (۲۸). در مطالعه‌ی حاضر، میانگین تعداد نورون‌های سالم پورکنژ قشر مخچه در دز ۴۰۰ میلی‌گرم عصاره‌ی اسطوخودوس از دزهای ۲۰۰ و ۶۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم بیشتر بود.

بنابراین، می‌توان گفت که دز ۴۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم برای کاهش اثرات استرس بر روی نورون‌های پورکنژ قشر مخچه‌ی دز مناسبی است و می‌توان از این بخش مطالعه، این نتیجه را گرفت که داروهای گیاهی شبیه داروهای شیمیایی در یک دز تأثیر بهتری را دارند.

به عنوان نتیجه‌گیری نهایی، مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که اسطوخودوس می‌تواند نقش محافظتی بر روی سلول‌های پورکتز قشر مخچه‌ی موش‌های صحرایی نر تحت استرس داشته باشد و تا حد زیادی مضرات استرس را کاهش دهد.

تشکر و قدردانی

از شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار به خاطر تصویب طرح با کد ۹۷۱۸۷ و کد اخلاق REC.1398.011 سپاسگزاری می‌گردد. همچنین، از دکتر محمدرضا مهاجرانی و کارشناس آزمایشگاه خانم محمودی که در بخشی از امور ایمونوهیستوشیمی همکاری داشتند، قدردانی به عمل می‌آید.

افزایش میانگین سن افراد جامعه با افزایش بیماری Alzheimer رابطه‌ی مستقیمی دارد.

Duan و همکاران، گزارش می‌دهند که مواد معطر مانند اسطوخودوس، باعث آرامش (Relaxation) و افزایش خوشی (Arousal) از طریق تأثیر بر چند ناحیه از سیستم عصبی مرکزی نظیر جیروس جلویی و عقبی قشر پیشانی (Pre/post-central gyrus and frontal eye field) می‌شود (۳۲). پیشنهاد می‌شود مطالعات بیشتری از نقش عصاره‌ی اسطوخودوس بر روی سیستم عصبی مرکزی حیوانات تحت استرس انجام شود. این مطالعه، اولین گزارشی است که اثر اسطوخودوس را بر روی نورون‌های پورکتز قشر مخچه‌ی موش‌های صحرایی تحت استرس اجباری نشان می‌دهد.

References

1. Gradus JL. Prevalence and prognosis of stress disorders: A review of the epidemiologic literature. *Clin Epidemiol* 2017; 9: 251-60.
2. Aruoma OI. Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods. *Mutat Res* 2003; 523-524: 9-20.
3. Schneiderman N, Ironson G, Siegel SD. Stress and health: psychological, behavioral, and biological determinants. *Annu Rev Clin Psychol* 2005; 1: 607-28.
4. Wolf OT, Atsak P, de Quervain DJ, Roozendaal B, Wingenfeld K. Stress and memory: A selective review on recent developments in the understanding of stress hormone effects on memory and their clinical relevance. *J Neuroendocrinol* 2016; 28(8): 12353.
5. Bottaccioli AG, Bottaccioli F, Minelli A. Stress and the psyche-brain-immune network in psychiatric diseases based on psychoneuroendocrineimmunology: A concise review. *Ann N Y Acad Sci* 2019; 1437(1): 31-42.
6. Michaels CC, Holtzman SG. Early postnatal stress alters place conditioning to both mu- and kappa-opioid agonists. *J Pharmacol Exp Ther* 2008; 325(1): 313-8.
7. Yarahalli J, V, Baggavalli S, Reddy D, Sistla S, Malempati R. Effect of endosulfan and bisphenol A on the expression of SUMO and UBC9. *Drug Chem Toxicol* 2018; 1-8.
8. Coelho VR, Gianesini J, Von Borowski R, Mazzardo-Martins L, Martins DF, Picada JN, et al. Linalool, a naturally occurring monoterpene compound, impairs memory acquisition in the object recognition task, inhibitory avoidance test and habituation to a novel environment in rats. *Phytomedicine* 2011; 18(10): 896-901.
9. Lee I, Eriksson P, Fredriksson A, Buratovic S, Viberg H. Developmental neurotoxic effects of two pesticides: Behavior and neuroprotein studies on endosulfan and cypermethrin. *Toxicology* 2015; 335: 1-10.
10. Rahzani K, Malekirad A, Shariatzadeh S, Birami M, Fazli D, Baghinia M. A comparison of the effects of anethum graveolens and wheat germ oil on the blood oxidative stress in wistar rats. *J Med Plants* 2009; 4(32): 79-83. [In Persian].
11. Mirzaei F, Keshtgar S, Kaviani M, Rajaeifar AR. The effect of lavender essence smelling during labor on cortisol and serotonin plasma levels and anxiety reduction in nulliparous women. *J Kerman Univ Med Sci* 2009; 16(3): 245-54. [In Persian].
12. Hritcu L, Cioanca O, Hancianu M. Effects of lavender oil inhalation on improving scopolamine-induced spatial memory impairment in laboratory rats. *Phytomedicine* 2012; 19(6): 529-34.
13. Greenberg MJ, Slyer JT. Effectiveness of Silexan oral lavender essential oil compared to inhaled lavender essential oil aromatherapy for sleep in adults: a systematic review. *JBI Database System Rev Implement Rep* 2018; 16(11): 2109-17.
14. Timmann D, Drepper J, Frings M, Maschke M, Richter S, Gerwig M, et al. The human cerebellum contributes to motor, emotional and cognitive associative learning. A review. *Cortex* 2010; 46(7): 845-57.
15. Ito M. Historical review of the significance of the cerebellum and the role of Purkinje cells in motor learning. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 978: 273-88.
16. Vakili A, Sharifat S, Akhavan MM, Bandegi AR. Effect of lavender oil (*Lavandula angustifolia*) on cerebral edema and its possible mechanisms in an experimental model of stroke. *Brain Res* 2014; 1548: 56-62.
17. Buyukokuroglu ME, Gepdiremen A, Hacimuftuoglu A, Oktay M. The effects of aqueous extract of *Lavandula angustifolia* flowers in glutamate-induced neurotoxicity of cerebellar granular cell culture of rat pups. *J Ethnopharmacol* 2003; 84(1): 91-4.
18. Cardia GFE, Silva-Filho SE, Silva EL, Uchida NS, Cavalcante HAO, Cassarotti LL, et al. Effect of Lavender (*Lavandula angustifolia*) Essential Oil on

- Acute Inflammatory Response. Evid Based Complement Alternat Med 2018; 2018: 1413940.
19. Golmohammadi R, Rakhshani MH, Moslem AR, Pejhan A. Prognostic Role of PTEN Gene Expression and Length of Survival of Breast Cancer Patients in the North East of Iran. Asian Pac J Cancer Prev 2016; 17(S3): 305-9.
 20. Dashti G, Rashidi B, Reisi P, Rah-Afrouz L. Dashti GhR, Rashidi B, Reisi P, Rah-Afrouz L. The Effect of Iron and Cholesterol on Neuronal Apoptosis in Dentate Gyrus of Hippocampus in Rabbits Fed with High-Cholesterol Diet. J Isfahan Med Sch 2015; 33(349): 1459-67. [In Persian].
 21. Gown AM, Willingham MC. Improved detection of apoptotic cells in archival paraffin sections: immunohistochemistry using antibodies to cleaved caspase 3. J Histochem Cytochem 2002; 50(4): 449-54.
 22. Aboutaleb N, Jamali H, Abolhasani M, Pazoki TH. Lavender oil (*Lavandula angustifolia*) attenuates renal ischemia/reperfusion injury in rats through suppression of inflammation, oxidative stress and apoptosis. Biomed Pharmacother 2019; 110: 9-19.
 23. Rezvani ME, Roohbakhsh A, Mosaddegh MH, Esmailidehaj M, Khaloobagheri F, Esmaili H. Anticonvulsant and depressant effects of aqueous extracts of *Carum copticum* seeds in male rats. Epilepsy Behav 2011; 22(2): 220-5.
 24. Abbasi Maleki S, Bekhradi R, Asgharpanah J, Abbasi Maleki F, Maleki Ahanghari N. Antidepressant-Like Effect of Aqueous and Hydroalcoholic Extracts of *Lavandula Angustifolia* Mill in Forced Swim Test and Tail Suspension Test in Male Mice. J Arak Uni Med Sci. 2013; 16 (9) :65-75. [In Persian].
 25. Haleagrahara N, Radhakrishnan A, Lee N, Kumar P. Flavonoid quercetin protects against swimming stress-induced changes in oxidative biomarkers in the hypothalamus of rats. Eur J Pharmacol 2009; 621(1-3): 46-52.
 26. Rabiei Z, Rafieian-Kopaei M, Mokhtari S, Alibabaei Z, Shahrani M. The effect of pretreatment with different doses of *Lavandula officinalis* ethanolic extract on memory, learning and nociception. Biomed. Aging Pathol 2014; 4(1): 71-6.
 27. Oskouie AA, Yekta RF, Tavirani MR, Kashani MS, Goshadrou F. *Lavandula angustifolia* effects on rat models of Alzheimer's disease through the investigation of serum metabolic features using NMR metabolomics. Avicenna J Med Biotechnol 2018; 10(2): 83-92.
 28. Field T, Field T, Cullen C, Largie S, Diego M, Schanberg S, et al. Lavender bath oil reduces stress and crying and enhances sleep in very young infants. Early Hum Dev 2008; 84(6): 399-401.
 29. Arzi A, Ahamehe M, Sarahroodi S. Effect of hydroalcoholic extract of *Lavandula officinalis* on nicotine-induced convulsion in mice. Pak J Biol Sci 2011; 14(11): 634-40.
 30. Abdanipour A, Nejatbakhsh R, Jafari Anarkooli I, Ghorbanli M, Nikfar A, Noriyan A. Proliferation and Anti-Apoptotic Effect of Hydroethanolic Extract of *Lavandula officinalis* on Rat Neural Stem Cells. J Adv Med Biomed Res. 2016; 24 (105) :43-52. [In Persian].
 31. Jacobs HIL, Hopkins DA, Mayrhofer HC, Bruner E, van Leeuwen FW, Raaijmakers W, et al. The cerebellum in Alzheimer's disease: evaluating its role in cognitive decline. Brain 2018; 141(1): 37-47.
 32. Duan X, Tashiro M, Wu D, Yambe T, Wang Q, Sasaki T, et al. Autonomic nervous function and localization of cerebral activity during lavender aromatic immersion. Technol Health Care 2007; 15(2): 69-78.

The Effect of Hydro-alcoholic Extract of *Lavandula Angustifolia* on Purkinje Neurons Following Enforced Swimming Stress in Male Rats

Rahim Golmohammadi¹, Seyed Mehedi Beheshti-Naser², Faezeh Akbari³

Original Article

Abstract

Background: There was no report about the effect of *Lavandula angustifolia* (lavender) on Purkinje neurons in cerebellum. The purpose of this study was to determine the effects of lavender extract on structure of Purkinje neurons during forced swimming stress.

Methods: Fifty rats were randomly divided into five groups of ten. Four groups were enforced under swimming stress; the first group received gavage normal saline, the second, third, and fourth group received 200, 400, and 600 mg/kg of gavage lavender extract, respectively. The fifth group considered as intact control. The treatment period was 14 days. Rats were deeply anesthetized and sacrificed, and the cerebella dissected and fixed in formalin. Histological passage was performed for each section, and stained thereafter. The number of normal Purkinje neurons were then counted. The morphological changes in the Purkinje neurons were histologically and immunohistochemically determined. Data were statistically analyzed using Duncan and Scheffe tests.

Findings: There were significant increase in mean number of normal Purkinje neurons in rats received 400 mg/kg lavender extract compared to other groups ($P < 0.001$). Compared to other groups, the morphological changes such as density of the nucleus in Purkinje neurons, raised cytoplasm acidophilic, and caspase-3-positive neuronal Purkinje increased in the group with swimming stress and normal saline.

Conclusion: The results showed that lavender extract at 400 mg/kg dose may protect Purkinje neurons in male rats under forced swimming stress.

Keywords: Rat, Lavender, Physiological stress, Purkinje neuron

Citation: Golmohammadi R, Beheshti-Naser SM, Akbari F. **The Effect of Hydro-alcoholic Extract of *Lavandula Angustifolia* on Purkinje Neurons Following Enforced Swimming Stress in Male Rats.** J Isfahan Med Sch 2020; 37(555): 1338-46.

1- Associate Professor, Department of Anatomy, Cellular and Molecular Research Center, School of Medicine, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzvar, Iran

2- Instructor, Department of Physiology-Pharmacology, School of Medicine, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran

3- Student of Medicine, School of Medicine, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran

Corresponding Author: Rahim Golmohammadi, Email: rahimgolmohammadi@yahoo.com