مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال بیست و نهم/شماره ۱۶۵/هفته اول بهمن ماه ۱۳۹۰
مقاله پژوهشی
تاریخ دریافت: ۹۰/۴/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۰/۷/۳

بررسی اثر تجویز مادری کندر در دوران شیردهی بر شاخص‌های استریولوژیک هیپوکامپوس موالید موش بزرگ آزمایشگاهی

دکتر محمد حسینی شریف آباد[۱]، دکتر ابراهیم اسفندیاری[۲]

چکیده

مقدمه: پیش از این گزارش کردیم که تجویز کندر در دوره‌ی شیردهی مادر باعث افزایش یادگیری و حافظه‌ی زاده‌های رت جوان شد. این مطالعه با هدف تعیین تغییرات احتمالی ساختمان هیپوکامپوس به عنوان یک مرکز حیاتی دخیل در روند یادگیری و حافظه متعاقب تجویز کندر در دوره‌ی شیردهی انجام شد.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی تجربی، رت‌های نر دو ماهه‌ی ویستار که به مادران آن‌ها در دوره‌ی شیردهی به مدت سه هفته به صورت روزانه ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن عصاره‌ی آبی کندر خورانده شده بود و گروه شاهد که آب مقطر دریافت کرده بودند (در هر گروه ۶ سر رت) به طور عمیق بیهوش شدند. مغز هر یک از رت‌ها بیرون آورده شد و به دو نیمکره تقسیم شد. یک نیمکره برای محاسبه‌ی حجم لایه‌های سلولی و تعداد کل نورون زیر نواحی و دیگری برای تخمین حجم نورون‌های هیپوکامپوس استفاده شد. به ترتیب روش‌های استریولوژیک کاوالیه، Optical fractionator و روتاتور برای تعیین حجم لایه‌ها، تعداد نورون‌ها و حجم جسم سلولی نورون‌های مربوطه استفاده شد.

یافته‌ها: تعداد کل نورون‌ها در زیر نواحی هیپوکامپوس گروه آزمایش در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت، اما حجم لایه‌های سلولی شکنج دندانه‌ای و شاخ آمون ۳ و حجم نورون‌های این زیر نواحی متعاقب مصرف کندر توسط مادر در دوره‌ی شیردهی افزایش یافت.

نتیجه‌گیری: افزایش حجم جسم سلولی نورون‌های هیپوکامپوس زاده‌های رت متعاقب مصرف کندر در دوره‌ی شیردهی توسط مادر را می‌توان به عنوان شاخصی برای بهبود عملکرد هیپوکامپوس(حافظه) در نظر گرفت که ممکن است به علت افزایش محتویات نورون از قبیل میانجی‌های عصبی و ارگانل‌های داخل سلولی یا افزایش تعداد تماس‌های سیناپسی باشد.

واژگان کلیدی: تکامل، کندر، موش صحرایی، هیپوکامپوس.

مقدمه

کندر (Olibanum یا Frankincense) صمغی است که از گیاهی درختچه‌ای از خانواده‌ی بورسراسه (Burseraceae) و جنس بوسولیا (Boswellia) به دست می‌آید. از گونه‌های مختلف بوسولیا، ۴ گونه‌ی آن به نام‌های Boswellia serrata (بومی هند)، Boswellia carteri (بومی شرق آفریقا)، Boswellia papyrifera (بومی اریتره) و Boswellia sacra (بومی شبه جزیره‌ی عربی) کندر بیشتری تولید می‌کنند (۲-۱).

بیش از ۲۰۰ ترکیب در صمغ‌های بوسولیا شناسایی شده است (۴-۳) که اسیدهای بوسولیک (Boswellic acids) فراوان‌ترین جزء آن است (۵). به دلیل استفاده‌ی سنتی طولانی مدت از صمغ‌های بوسولیا برای درمان بیماری‌های التهابی، عمده‌ی تحقیقات روی اسیدهای بوسولیک در این حیطه متمرکز شده است. اما ترکیب دیگری از این صمغ به نام Incensole acetate و مشتقاتش یافت شده است که از طریق اثرات ضد التهابی روی مغز باعث حفاظت

[۱] دانشیار، گروه بیولوژی و علوم تشریح، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران
[۲] استاد، گروه علوم تشریحی و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر محمد حسینی شریف آباد
Email: mhosseini81@yahoo.com

www.mui.ac.ir

نورونی می‌شود و همچنین اثر ضد اضطرابی و ضد افسردگی دارد (۷-۶).

مطالعات نشان داده است که فعالیت صمغ کندر (کل عصاره) بالاتر از اسیدهای بوسولیک خالص شده می‌باشد (۹-۸). با آن که طی قرن‌ها، کندر در مراسم مذهبی و عطر سازی مورد استفاده قرار گرفته است (۱۰)، اما در مطالعات جدید خواص دیگری از آن مثل اثرات ضد التهاب (۱۲-۱۱)، آرامبخش، کاهش دهنده‌ی درد (۱۳)، پایین آورنده‌ی چربی خون (۱۴)، اثرات ضد تومور و ضد سرطان (۱۵) گزارش شده است. همچنین در طب سنتی اسلامی و ایرانی، مصرف کندر برای افزایش حافظه‌ی افراد مسن و برای افزایش هوش و حافظه‌ی فرزندان، مصرف آن توسط مادران باردار توصیه شده است (۱۷-۱۶). با این حال هنوز فاصله‌ی بین دانش روز و استفاده‌ی سنتی از این دارو زیاد است و شواهد و اطلاعات علمی اندکی در این رابطه در دسترس است (۲۰-۱۸). از آن جایی که اسیدهای بوسولیک در پلاسمای خون افراد بیماری که عصاره‌ی کندر مصرف کرده بودند، شناسایی شده است (۲۱) و نیز اثر آن بر روی تکامل نورون‌های هیپوکامپی و با توجه به مشکلات عملی و اخلاقی آزمایش دارو بر روی انسان، ما طی دهه‌ی اخیر در حال انجام مطالعه‌ی گسترده‌ای روی اثر مصرف کندر بر روی عملکرد و ساختمان بافتی مراکز حافظه در مغز روی نمونه‌ی حیوانی بوده‌ایم.

ابتدا در سال ۱۳۸۲ اثر مثبت مصرف کندر در دوره‌ی بارداری در افزایش قدرت یادگیری و حافظه‌ی نوزادان نر موش بزرگ آزمایشگاهی (رت) را گزارش نمودیم (۲۲). همچنین نتایج مطالعه‌ی دیگر ما نشان داد که مصرف کندر در دوره‌ی شیردهی توسط مادر باعث افزایش یادگیری و حافظه‌ی رت شده است (۲۳). همچنین مطالعات استریولوژیک و مورفومتریک در این زمینه نشان داد که مصرف کندر در دوره‌ی بارداری باعث افزایش اندازه‌ی نورون‌ها در ناحیه‌ی CA3 هیپوکامپوس می‌شود (۲۴). همچنین افزایش تعداد انشعابات دندریت‌های نورون‌های ناحیه‌ی CA3 گزارش شد (۲۵).

بنا بر یافته‌های مطالعه‌ی قبلی مبنی بر افزایش حافظه‌ی نوزاد متعاقب تجویز کندر در دوره‌ی شیردهی مادر و با توجه به آن که در هنگام تولد رت، مغز نوزاد دوره‌ی تکاملی مشابه سه ماهه‌ی سوم بارداری انسان را طی می‌نماید (۲۶)، این مطالعه با هدف بررسی تغییرات تکاملی ساختمان هیپوکامپوس متعاقب مصرف کندر در سه هفته دوره‌ی شیردهی بررسی شد.

هیپوکامپوس بخش شناخته شده‌ای از مغز است که در روند یادگیری و حافظه نقش اساسی به عهده دارد (۲۷). هیپوکامپوس دارای دو ناحیه‌ی مشخص به نام‌های شکنج دندانه‌ای (Dentate gyrus) و شاخ آمون (Cornu ammonis یا CA) است که شاخ آمون خود شامل سه بخش CA1، CA2 و CA3 می‌باشد (۲۸).

روش‌ها

در این مطالعه‌ی تجربی که در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام گرفت، تعداد ۲۰ سر رت ماده‌ی دو ماهه از نژاد ویستار با محدوده‌ی وزنی ۲۲۰-۲۰۰ گرم که در خانه‌ی حیوانات دانشکده پرورش یافته بودند، انتخاب گردیدند و هر کدام با یک رت نر به طور جداگانه در قفس‌های پلاستیکی با درپوش فلزی مشبک جهت جفت گیری قرار داده شدند. پس از

www.mui.ac.ir

تولد نوزادان، فقط رت‌هایی که دارای ۱۲-۸ نوزاد بودند، در مطالعه باقی ماندند و بقیه حذف شدند. رت‌های مادر به طور تصادفی در دو گروه دسته‌بندی شدند: گروه شاهد، که در طول دوره‌ی شیردهی یک بار در روز آب مقطر به آن‌ها خورانده شد و گروه آزمایش که در طی دوره‌ی شیردهی (۳ هفته)، یک بار در روز عصاره‌ی آبی کندر به آن‌ها خورانده شد.

نوزادان در پایان سه هفتگی از شیر گرفته شدند و زمانی که دو ماهه شدند یک رت نر سالم و درمحدوده‌ی وزنی ۲۲۰-۲۰۰ گرم از هر مادر انتخاب گردید و در نهایت ۶ رت از هر گروه مورد مطالعه قرار گرفت.

در طول مطالعه، حیوانات به غذای آزمایشگاهی استاندارد و آب به میزان کافی دسترسی داشتند و در دوره‌ی نوری ۱۲ ساعت روشنایی (ساعت ۱۹-۷) و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند.

کندر از نوع Boswellia serrata از شرکت گل دارو (اصفهان) تهیه و در آزمایشگاه فارماکوگنوزی دانشکده‌ی داروسازی اصفهان تأیید گردید. با توجه به مطالعات قبلی، دوز مؤثر ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن انتخاب شد. برای تهیه‌ی عصاره‌ی آبی کندر مقدار یک گرم کندر در هاون چینی کامل ساییده شد و کم کم به آن آب مقطر افزوده شد تا حجم محلول به ۵۰ میلی‌لیتر برسد. سوسپانسیون شیری رنگ حاصل برای تزریق خوراکی استفاده شد که این کار با عبور سوزن مخصوص تغذیه (Feeding needle) از دهان و تزریق عصاره‌ی داخل مری انجام شد. دارو به صورت روزانه تهیه و قبل از مصرف به خوبی تکان داده شد.

کندر دارویی به نسبت امن است و در مقادیر مصرف معمولی هیچگونه تأثیر نامطلوب بر سیستم‌های قلبی– عروقی، تنفسی و اعصاب مرکزی ندارد و دوز کشنده‌ی آن در موش ۲ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن گزارش شده است (۳۰).

در این مطالعه برای اندازه‌گیری حجم نواحی، تعداد و اندازه‌ی نورون‌های زیر نواحی هیپوکامپوس از روش‌های استریولوژیک که ابزاری استاندارد، دقیق، بدون سوگیری (Unbiased) و معتبر می‌باشد (۲۹)، استفاده شده است.

رت‌ها با تزریق داخل صفاقی Urethan (مرک، آلمان) بیهوش شدند. با تزریق داخل قلبی محلول بافر فسفات فرمالدئید ۴ درصد و گلوتارآلدئید ۱ درصد، مغز ثابت گردید و از جمجمه خارج شد. بخش خلفی مغز که حاوی هیپوکامپوس است، برداشته شد و هیپوکامپوس یک طرف برای محاسبه‌ی حجم لایه‌های سلولی و تعداد کل نورون در زیر نواحی و طرف دیگر برای اندازه‌گیری حجم نورون استفاده گردید. از قالب‌های بافتی که برای محاسبه‌ی حجم لایه‌های سلولی و تعداد کل نورون انتخاب شده بود، برش‌های متوالی به ضخامت ۱۰۰ میکرون به وسیله‌ی دستگاه ویبرتوم (Bio-Rad Polaron Vibratome، انگلستان) بریده شد و از هر ۵ برش یکی به روش تصادفی یکنواخت سیستماتیک انتخاب و پس از رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین مورد مطالعه استریولوژیک قرار گرفت. بر روی قالب بافتی نیمکره‌ی دیگر مراحل تهیه‌ی برش‌های عمودی (Vertical sections) انجام گرفت و پس از رنگ‌آمیزی گیمسا برای محاسبه‌ی اندازه‌ی حجم نورون استفاده گردید.

در مطالعه‌ی میکروسکوپی تشخیص نواحی مختلف هیپوکامپوس از یکدیگر بر اساس مورفولوژی نورون‌های هر ناحیه انجام شد. با توجه به آن که

www.mui.ac.ir

نورون‌های ناحیه‌ی CA2 که حدفاصل نواحی CA1 و CA3 قرار دارد، مشابهت زیادی با شکل نورن‌های CA3 دارد در محاسبات استریولوژیک ناحیه‌ی CA2 با CA3 محسوب می‌گردد (۲۸).

در این مطالعه جهت اندازه‌گیری حجم لایه‌های سلولی زیر نواحی هیپوکامپوس از اصل کاوالیه (Cavallieri principle)، (۲۹) برای محاسبه‌ی تعداد کل نورون از روش Optical fractionator (۲۸) و برای تخمین حجم جسم نورون‌های هیپوکامپی از روش Rotator (۳۲-۳۱) استفاده گردید. ابعاد نمونه‌برداری برای هر ناحیه طوری انتخاب گردید که ۱۰۰ تا ۲۰۰ مورد بر روی هر ناحیه هر هیپوکامپوس مطالعه شود (۳۳).

برای محاسبه‌ی حجم نواحی به روش کاوالیه (۲۹)، با قرار دادن تصادفی نقاطی با مساحت معین A(P) بر روی شکل و شمارش نقاطی که با هر یک از نواحی هیپوکامپوس برخورد کرده بودند (ΣP) سطح هر ناحیه محاسبه شد (شکل ۱) و با ضرب نمودن آن در فاصله‌ی بین برش‌های انتخابی که ثابت است (d)، حجم هر ناحیه و حجم کل هیپوکامپوس با استفاده از فرمول زیر بر طبق اصل کاوالیه محاسبه شد.

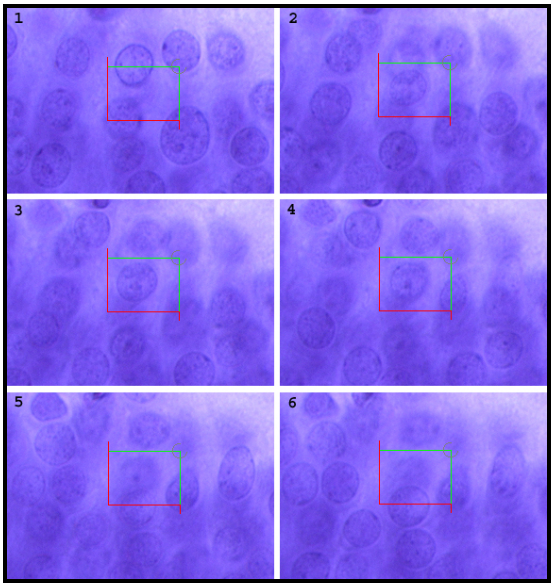
$$V = \Sigma P.A(P).d$$

شکل ۱. محاسبه‌ی سطح مقطع هر یک از نواحی هیپوکامپوس با استفاده از روش شمارش نقاط

برای محاسبه‌ی تعداد کل نورون به روش اپتیکال فراکشناتور (۳۱، ۲۸)، کسری (۱:۵) از مقاطع انتخاب شد و در کسر معینی از مساحت سطح مقطع، با توجه به کسری از ضخامت مقطع (۱۵ میکرون)، با روش اپتیکال دایسکتور هسته‌های نورونی شمارش گردید (شکل ۲) و با قرار دادن داده‌های مربوط در رابطه‌ی زیر، تعداد کل نورون‌ها در هر ناحیه به دست آمد:

$$N = \frac{1}{ssf} \cdot \frac{1}{asf} \cdot \frac{1}{hsf} \cdot \sum Q$$

ssf (Section sampling fraction) کسری از مقاطع است که مطالعه بر روی آن صورت گرفته است. -∑Q عبارت است از تعداد کل هسته‌های نورونی شمرده شده در دایسکتورهای واقع در داخل مقاطع ناحیه‌ی مورد نظر و hsf (Height sampling fraction)، کسری از ضخامت (ارتفاع) مقطع است که در آن هسته‌های



شکل ۲. شمارش نورون به روش اپتیکال دایسکتور: از سطح بالا تا سطح پایینی ارتفاع دایسکتور (۱ تا ۶) سیر کرده و تنها هسته‌های نورونی که به تازگی در داخل فریم شمارش ظاهر می‌شوند و مماس با خطوط پر رنگ‌تر نیستند، شمرده می‌شوند.

www.mui.ac.ir

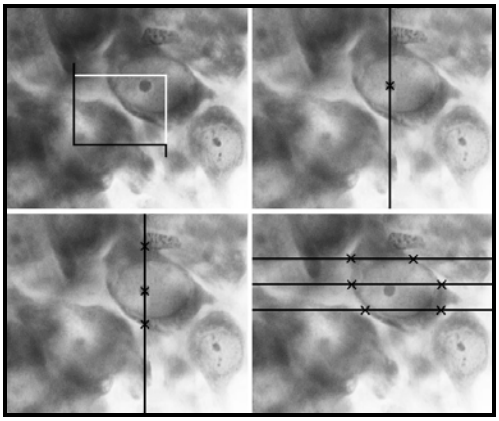
نورون شمرده شده است و برابر است با حاصل تقسیم اندازه‌ی ضخامت دایسکتور (h) بر اندازه‌ی ضخامت نهایی مقطع (Area sampling fraction) Asf (t) کسری از مساحت مقطع است که شمارش در آن انجام شده است و برابر است با حاصل تقسیم مساحت فریم شمارش [a(frame)] بر حاصل ضرب فاصله‌ی طولی و عرضی (dx.dy) فریم‌ها از یکدیگر:

$$asf = (a(frame)/dx.\ dy)$$

برای محاسبه‌ی حجم نورون به روش روتاتور (۳۱، ۲۴) بتدا پس از انتخاب تصادفی جسم نورون مربوطه، هستک آن را مشخص و محدوده‌ی عمودی جسم سلولی به وسیله‌ی خطی که از هستک می‌گذرد معین می‌شود و سه خط موازی افقی به فاصله‌ی مساوی d روی جسم سلولی قرار می‌گیرد و محل برخورد خطوط با محیط جسم سلولی مشخص می‌گردد. با به دست آوردن اندازه‌ی طول (l) آن‌ها (شکل ۳) و قرار دادن در فرمول $V = \pi.\ d.\ \sum l_i^2$ حجم سلول محاسبه می‌گردد.

در محاسبات حجم، میزان چروکیدگی و جمع شدگی Shrinkage بافت به علت طی مراحل آماده سازی و رنگ آمیزی اندازه‌گیری شد و بنا بر میزان جمع شدگی اندازه‌های مذکور تصحیح گردید.

مقدار ضریب خطای (Coefficient of error یا CE) محاسبه بر اساس روش Gundersen (۳۳) و میزان ضریب تغییرات (Coefficient of variances یا CV) بنا بر روش West محاسبه گردید (۳۴). داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه‌ی ۱۱/۵ (version 11.5, SPSS Inc., Chicago, IL) و آزمون Student-t مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج با $P < ۰/۰۵$ معنی‌دار تلقی گردید.



شکل ۳. محاسبه‌ی حجم نورون CA3 به روش روتاتور

یافته‌ها

مقایسه‌ی حجم لایه‌های مربوط به اجسام سلولی هر یک از زیر نواحی هیپوکامپوس در دو گروه مورد مطالعه نشان داد که حجم لایه‌های سلولی شکنج دندانه‌ای و هرمی شاخ آمون ۳ در رت‌های جوانی که مادران آن‌ها در دوره‌ی شیردهی کندر مصرف نموده بودند، نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌دار داشت (جدول ۱).

تحلیل آماری داده‌ها همچنین نشان داد که تعداد نورون‌های هر یک از زیر نواحی هیپوکامپوس حیواناتی که به مادران آن‌ها در دوره‌ی شیردهی کندر تجویز شده بود در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۲).

اما یافته‌ها نشان داد که مصرف کندر در دوره‌ی شیردهی بر روی اندازه‌ی جسم سلولی نورون‌های هیپوکامپی اثر دارد. با توجه به جدول ۳ و مقایسه‌ی مقادیر حجم در می‌یابیم که به ترتیب حجم نورون‌های گرانولر ناحیه‌ی شکنج دندانه‌ای، هرمی ناحیه‌ی شاخ آمون ۳ و هرمی ناحیه‌ی شاخ آمون ۱ در رت‌های جوانی که به مادران آن‌ها به مدت ۳ هفته در دوره‌ی شیردهی کندر تجویز شده بود ۱۹، ۲۰ و ۱۱ درصد نسبت به گروه شاهد افزایش یافت؛ اما این افزایش

www.mui.ac.ir

جدول ۱. حجم لایه‌های سلولی نواحی هیپوکامپوس (بر حسب میلی‌متر مکعب) در رت‌های گروه آزمایش و شاهد

نواحی هیپوکامپوس	ضریب خطای محاسبه	آزمایش		شاهد		مقدار P
		میانگین	ضریب تغییرات	میانگین	ضریب تغییرات	
لایه‌ی گرانولر شکنج دندانه‌ای	۰/۰۹	۱/۹۱	۰/۱۷	۱/۵۳	۰/۱۲	< ۰/۰۳
لایه‌ی هرمی شاخ آمون ۱	۰/۰۷	۱/۵۵	۰/۱۲	۱/۴۰	۰/۰۸	۰/۱۲
لایه‌ی هرمی شاخ آمون ۳	۰/۰۹	۲/۳۳	۰/۱۳	۱/۹۲	۰/۱۱	< ۰/۰۲

جدول ۲. تعداد نورون (بر حسب میلیون) در زیر نواحی هیپوکامپوس در گروه‌های مورد مطالعه

نواحی هیپوکامپوس	آزمایش		شاهد		مقدار P
	میانگین	ضریب تغییرات	میانگین	ضریب تغییرات	
لایه‌ی گرانولر شکنج دندانه‌ای	۱/۰۶	۰/۰۷۰	۱/۰۶	۰/۰۸۰	۰/۹۰
لایه‌ی هرمی شاخ آمون ۱	۰/۳۱۸	۰/۱۲۲	۰/۳۳۱	۰/۱۴۷	۰/۶۲
لایه‌ی هرمی شاخ آمون ۳	۰/۱۹۷	۰/۲۲۰	۰/۱۹۶	۰/۱۸۳	۰/۹۶

حجم در نورون‌های هرمی ناحیه‌ی شاخ آمون ۱ از لحاظ آماری به سطح معنی‌دار نرسید (P = ۰/۰۸).

در این مطالعه، دامنه‌ی مقدار CE در محاسبه‌ی تعداد نورون در هر یک از زیرنواحی هیپوکامپوس حیوانات از ۰/۰۷ تا ۰/۱۰ متغیر و در مجموع میانگین آن ۰/۰۸ بود که نمایانگر کم بودن میزان خطا در تخمین مقادیر تعداد بود.

بحث

این مطالعه نشان داد که مصرف کندر در دوره‌ی شیردهی رت باعث افزایش حجم لایه‌های سلولی شکنج دندانه‌ای و هرمی شاخ آمون ۳ در رت‌های نر جوان شد که این افزایش همراه با بزرگ شدن جسم سلولی نورون‌های هیپوکامپی نواحی مذکور بود بی آن که تغییری در تعداد نورن‌ها رخ داده باشد.

گر چه مکانیسم دقیق افزایش اندازه‌ی نورون‌های هیپوکامپوس در رت‌های جوان متعاقب مصرف کندر توسط مادران مشخص نیست، اما افزایش اندازه‌ی اجسام سلولی نورون‌ها را می‌توان به عنوان یک شاخص برای افزایش متابولیسم نورونی (۳۶-۳۵) در نظر گرفت که روی فعالیت این ناحیه از مغز که حافظه می‌باشد، اثر مثبت داشته است (۲۳-۲۲، ۲۰-۱۸). این بهبود عملکرد مستلزم افزایش محتویات نورون از قبیل میانجی‌های عصبی و ارگانل‌های داخل سلولی یا افزایش تعداد تماس‌های سیناپسی می‌باشد.

مطالعات پیشین نشان می‌دهد که اسید بوسولیک و عصاره‌های بوسولیا، کینازهای پروتئین را فعال می‌کند (۳۷، ۸). این کینازها برای ایجاد پلاستیسیتی (۳۸) و حافظه‌ی بلند مدت ضروری هستند (۴۲-۳۹). همچنین اسید بوسولیک بتا افزایش میزان پلیمریزاسیون پروتئین میکروتوبول در نورون‌های هیپوکامپی جنینی را در پی داشت که باعث تسریع بیرون زدن جوانه‌ی آکسونی و منشعب شدن بیشتر زواید دندریتی در نورون‌های هیپوکامپی جنینی رت به صورت in vitro می‌شود (۴۳).

در بررسی متون مطالعات متعددی وجود دارد که نشان می‌دهند که مصرف کندر باعث بهبود و افزایش حافظه می‌شود.

www.mui.ac.ir

جدول ۳. حجم جسم سلولی نورون (میکرومتر مکعب) در زیر نواحی هیپوکامپوس در گروه‌های مورد مطالعه

نواحی هیپوکامپوس	آزمایش		شاهد		مقدار P
	میانگین	ضریب تغییرات	میانگین	ضریب تغییرات	
لایه‌ی گرانولر شکنج دندانه‌ای	۷۲۵	۰/۱۱	۶۱۰	۰/۱۲	< ۰/۰۴
لایه‌ی هرمی شاخ آمون ۱	۱۵۲۸	۰/۱۰	۱۳۸۰	۰/۱۴	۰/۰۸
لایه‌ی هرمی شاخ آمون ۳	۳۵۳۴	۰/۰۷	۲۹۳۳	۰/۱۱	< ۰/۰۰۵

محمودی و همکاران گزارش نمودند که دوزهای مختلف عصاره‌ی الکلی Boswellia papyrifera و اسیدهای بوسولیک حافظه‌ی فضایی را افزایش می‌دهد (۱۸). در مطالعه‌ای توسط حسینی و همکاران اثر مصرف کندر با دوز ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت ۶ ماه در رت‌های نر که به علت هیپوتیرو‌ییدیسم دچار نقص حافظه شده بودند بررسی گردید. آن‌ها گزارش نمودند که کندر باعث تقویت حافظه‌ی این حیوانات در آزمون ماز آبی موریس شده است (۲۰). همچنین فرشچی و همکاران مصرف خوراکی دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی آبی Boswellia papyrifera را بر حافظه‌ی موش و رت آزمایش کردند و گزارش نمودند که این دارو به صورت وابسته به دوز در تقویت یادگیری و حافظه مؤثر است (۱۹).

با آن که مقالات در زمینه‌ی اثر مصرف کندر بر افزایش حافظه در حیوانات بالغ رو به فزونی بوده است، اما مطالعات معدودی در دسترس است که اثر مصرف کندر توسط مادران در دوره‌ی بارداری و شیردهی بر عملکرد و به خصوص ساختمان سیستم عصبی مرکزی موالید را بررسی نموده باشند. ما در مطالعات قبلی خود گزارش کردیم که میزان یادگیری و حافظه در آزمون احترازی فعال در رت‌های نر بالغی که مادران آن‌ها در دوره‌ی بارداری به مدت ۳ هفته روزانه ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره‌ی کندر به صورت خوراکی دریافت کرده بودند، نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری داشت (۲۲).

مطالعه‌ی ما بر روی هیپوکامپوس همین حیوانات نشان داد اندازه‌ی جسم نورون‌های ناحیه‌ی شاخ آمون۳ و نیز انشعابات و طول زواید نورونی (دندریت‌ها) افزایش یافته است (۲۵-۲۴). در ادامه‌ی کار، مطالعه‌ی ما نشان داد که مصرف کندر در دوره‌ی شیردهی رت که معادل با سه ماهه‌ی سوم دوره‌ی تکاملی انسان است، حافظه‌ی رت‌های جوان را افزایش داده است. نتایج مطالعه‌ی حاضر که افزایش اندازه‌ی نورون‌ها در زیر نواحی شکنج دندانه‌ای و شاخ آمون ۳ هیپوکامپوس متعاقب مصرف کندر را نشان داد، دلیل نوروآناتومیکی در رابطه با اثر صمغ کندر در افزایش قوای یادگیری و حافظه ارائه می‌دهد. مقایسه‌ی نتایج این مطالعه با نتایج مطالعه‌ای که در آن اثر مصرف کندر در دوره‌ی بارداری روی هیپوکامپوس موالید بررسی شد، نشان داد که مصرف کندر در دوره‌ی شیردهی رت و به عبارتی در سه ماهه‌ی سوم بارداری انسان، نواحی بیشتری از این بخش از مغز را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

اکنون با توجه به نتایج این مطالعه و سایر مطالعات در این زمینه، توصیه‌های طب سنتی در مصرف کندر تا حدی با یافته‌های علوم جدید حمایت می‌شود و جایگاه صمغ کندر در تحقیقات نوروفیزیولوژی مورد تأکید قرار می‌گیرد.

www.mui.ac.ir

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان که بخشی از هزینه‌ی انجام این پژوهش مصوب به شماره‌ی ۸۰۱۵۲ را به عهده داشت و همچنین از همکاری دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد که امکانات مورد نیاز را در اختیار ما گذاشتند، صمیمانه قدردانی می‌نماییم.

References

1. Archier P, Vieillescazes C. Characterisation of various geographical origin incense based on chemical criteria. Analusis 2000; 28(3): 233-7.
2. Thulin M, Warfa AM. The frankincense trees (Boswellia spp., Burseraceae) of Northern Somalia and Southern Arabia. Kew Bulletin 1987; 42(3): 487-500.
3. Ammon HP. Boswellic acids in chronic inflammatory diseases. Planta Med 2006; 72(12): 1100-16.
4. Hamm S, Bleton J, Connan J, Tchapla A. A chemical investigation by headspace SPME and GC-MS of volatile and semi-volatile terpenes in various olibanum samples. Phytochemistry 2005; 66(12): 1499-514.
5. Jauch J, Bergmann J. An efficient method for the large-scale preparation of 3-O-Acetyl-11-oxo-b-boswellic acid and other boswellic acids. Eur J Org Chem 2003; 2003(24): 4752-6.
6. Moussaieff A, Shein NA, Tsenter J, Grigoriadis S, Simeonidou C, Alexandrovich AG, et al. Incensole acetate: a novel neuroprotective agent isolated from Boswellia carterii. J Cereb Blood Flow Metab 2008; 28(7): 1341-52.
7. Moussaieff A, Rimmerman N, Bregman T, Straiker A, Felder CC, Shoham S, et al. Incensole acetate, an incense component, elicits psychoactivity by activating TRPV3 channels in the brain. FASEB J 2008; 22(8): 3024-34.
8. Altmann A, Poeckel D, Fischer L, Schubert-Zsilavecz M, Steinhilber D, Werz O. Coupling of boswellic acid-induced Ca^{2+} mobilisation and MAPK activation to lipid metabolism and peroxide formation in human leucocytes. Br J Pharmacol 2004; 141(2): 223-32.
9. Poeckel D, Tausch L, Altmann A, Feisst C, Klinkhardt U, Graff J, et al. Induction of central signalling pathways and select functional effects in human platelets by beta-boswellic acid. Br J Pharmacol 2005; 146(4): 514-24.
10. Moore PD. Conservation biology: unkind cuts for incense. Nature 2006; 444(7121): 829.
11. Ernst E. Frankincense: systematic review. BMJ 2008; 337: a2813.
12. Moussaieff A, Shohami E, Kashman Y, Fride E, Schmitz ML, Renner F, et al. Incensole acetate, a novel anti-inflammatory compound isolated from Boswellia resin, inhibits nuclear factor-kappa B activation. Mol Pharmacol 2007; 72(6): 1657-64.
13. Menon MK, Kar A. Analgesic and psychopharmacological effects of the gum resin of Boswellia serrata. Planta Med 1971; 19(4): 333-41.
14. Dixit VP, Joshi S, Sinha R, Bharvava SK, Varma M. Hypolipidemic activity of guggal resin (Commiphora mukul) and garlic (Alium sativum linn.) in dogs (Canis familiaris) and monkeys (Presbytis entellus entellus Dufresne). Biochem Exp Biol 1980; 16(4): 421-4.
15. Huang MT, Badmaev V, Ding Y, Liu Y, Xie JG, Ho CT. Anti-tumor and anti-carcinogenic activities of triterpenoid, beta-boswellic acid. Biofactors 2000; 13(1-4): 225-30.
16. Abdul Hameed H. Avicenna's Tract on Cardiac Drugs and Essays on Arab Cardiotherapy. New Delhi: Hamdard Foundation; 1983.
17. Marshall S. Frankincense: festive pharmacognosy. Pharm J 2003; 271: 862-4.
18. Mahmoudi A, Hosseini-Sharifabad A, Monsef-Esfahani HR, Yazdinejad AR, Khanavi M, Roghani A, et al. Evaluation of systemic administration of Boswellia papyrifera extracts on spatial memory retention in male rats. J Nat Med 2011; 65(3-4): 519-25.
19. Farshchi A, Ghiasi G, Farshchi S, Malek Khatabi P. Effects of boswellia papyrifera gum extract on learning and memory in mice and rats. Iran J Basic Med Sci 2010; 13(2): 9-15.
20. Hosseini M, Hadjzadeh MA, Derakhshan M, Havakhah S, Rassouli FB, Rakhshandeh H, et al. The beneficial effects of olibanum on memory deficit induced by hypothyroidism in adult rats tested in Morris water maze. Arch Pharm Res 2010; 33(3): 463-8.
21. Buchele B, Zugmaier W, Estrada A, Genze F, Syrovets T, Paetz C, et al. Characterization of 3alpha-acetyl-11-keto-alpha-boswellic acid, a pentacyclic triterpenoid inducing apoptosis in vitro and in vivo. Planta Med 2006; 72(14): 1285-9.
22. Hosseini-Sharifabad M, Esfandiari E, Alaei H. Effects of Frankincence aqueous extract during gestational period on increasing power of learning and memory in adult offsprings. Journal of Isfahan Medical School 2004; 21(71): 16-20.
23. Hosseini-Sharifabad M, Esfandiary E. Effect of maternal consumption of aqueous extract of the gum resin of Boswellia Serrata during lactation

www.mui.ac.ir

on increasing power of learning and memory in adult offsprings. Iran J Basic Med Sc 2003; 6(3): 207-11.
24. Hosseini-Sharifabad M, Esfandiary E. Quantitative analysis of hippocampal neuron number and size following prenatal administration of Boswellia serrata gum resin in adult rats. Journal of Isfahan Medical School 2005; 21(76-77): 58-63.
25. Hosseini-Sharifabad M, Esfandiary E. A morphometeric study on CA3 hippocampal field in young rats following maternal administration of Boswellia serrata resin during gestation. Iran J Basic Med Sci 2007; 10(3): 176-82.
26. Bayer SA, Altman J, Russo RJ, Zhang X. Timetables of neurogenesis in the human brain based on experimentally determined patterns in the rat. Neurotoxicology 1993; 14(1): 83-144.
27. Zola-Morgan S, Squire LR. Neuroanatomy of memory. Annu Rev Neurosci 1993; 16: 547-63.
28. West MJ, Slomianka L, Gundersen HJ. Unbiased stereological estimation of the total number of neurons in thesubdivisions of the rat hippocampus using the optical fractionator. Anat Rec 1991; 231(4): 482-97.
29. Gundersen HJ, Bendtsen TF, Korbo L, Marcussen N, Moller A, Nielsen K, et al. Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. APMIS 1988; 96(5): 379-94.
30. Ammon HP, Mack T, Singh GB, Safayhi H. Inhibition of leukotriene B4 formation in rat peritoneal neutrophils by an ethanolic extract of the gum resin exudate of Boswellia serrata. Planta Med 1991; 57(3): 203-7.
31. Hosseini-Sharifabad M, Nyengaard JR. Design-based estimation of neuronal number and individual neuronal volume in the rat hippocampus. J Neurosci Methods 2007; 162(1-2): 206-14.
32. Tandrup T, Gundersen HJ, Jensen EB. The optical rotator. J Microsc 1997; 186(Pt 2): 108-20.
33. Gundersen HJ, Jensen EB, Kieu K, Nielsen J. The efficiency of systematic sampling in stereology--reconsidered. J Microsc 1999; 193(Pt 3): 199-211.
34. West MJ, Gundersen HJ. Unbiased stereological estimation of the number of neurons in the human hippocampus. J Comp Neurol 1990; 296(1): 1-22.
35. Arnold SE, Franz BR, Gur RC, Gur RE, Shapiro RM, Moberg PJ, et al. Smaller neuron size in schizophrenia in hippocampal subfields that mediate cortical-hippocampal interactions. Am J Psychiatry 1995; 152(5): 738-48.
36. Insausti AM, Gaztelu JM, Gonzalo LM, Romero-Vives M, Barrenechea C, Felipo V, et al. Diet induced hyperammonemia decreases neuronal nuclear size in rat entorhinal cortex. Neurosci Lett 1997; 231(3): 179-81.
37. Poeckel D, Werz O. Boswellic acids: biological actions and molecular targets. Curr Med Chem 2006; 13(28): 3359-69.
38. Nguyen PV, Woo NH. Regulation of hippocampal synaptic plasticity by cyclic AMP-dependent protein kinases. Prog Neurobiol 2003; 71(6): 401-37.
39. Alkon DL, Sun MK, Nelson TJ. PKC signaling deficits: a mechanistic hypothesis for the origins of Alzheimer's disease. Trends Pharmacol Sci 2007; 28(2): 51-60.
40. Sharifzadeh M, Aghsami M, Gholizadeh S, Tabrizian K, Soodi M, Khalaj S, et al. Protective effects of chronic lithium treatment against spatial memory retention deficits induced by the protein kinase AII inhibitor H-89 in rats. Pharmacology 2007; 80(2-3): 158-65.
41. Sharifzadeh M, Sharifzadeh K, Naghdi N, Ghahremani MH, Roghani A. Posttraining intrahippocampal infusion of a protein kinase AII inhibitor impairs spatial memory retention in rats. J Neurosci Res 2005; 79(3): 392-400.
42. Van HT, Cole G, Katzman R, Huang KP, Saitoh T. Reduced protein kinase C immunoreactivity and altered protein phosphorylation in Alzheimer's disease fibroblasts. Arch Neurol 1989; 46(11): 1195-9.
43. Karima O, Riazi G, Yousefi R, Movahedi AA. The enhancement effect of beta-boswellic acid on hippocampal neurites outgrowth and branching (an in vitro study). Neurol Sci 2010; 31(3): 315-20.

www.mui.ac.ir

Journal of Isfahan Medical School Original Article

Vol 29, No 165, 1st week, February 2012 Received: 16.7.2011 Accepted: 25.9.2011

The Effects of Maternal Administration of Boswellia Gum Resin (Frankincense) during Lactation on Stereological Parameters of Rat Hippocampus

Mohammad Hosseini Sharifabad PhD[1], Ebrahim Esfandiary MD, PhD[2]

Abstract

Background: We have previously reported that maternal administration of Boswellia serrata gum resin (Frankincense) during lactation increased learning and memory performance in young rat offsprings. This study aimed to determine the likely structural alterations of hippocampus, as a vital centre involved in learning and memory, following administration of Frankincense during lactation

Methods: In this experimental study, 2 month-old male Wistar rats whose mothers were given oral aqueous extract of the Boswellia serrata (100 mg/kg/day) during lactation (3 weeks), and their controls whose mothers received saline (n = 6) were anesthetized and transcardially perfused. All brains were removed and divided into two hemispheres. One hemisphere was selected for estimating the volumes of cellular layers of hippocampus and the total number of neurons, and the other for estimating the individual somal volume. The Cavalieri's principle and an optical fractionator and a rotator were employed to estimate the volumes of layers, total number of neurons and individual neuronal volume, respectively.

Findings: Our results showed that no significant difference in the total number of neurons in hippocampal subregions of the experimental group compared to the controls. However, the volume of cellular layer of dentate gyrus and cornu ammon 3(CA3) and individual volume of their neurons increased following maternal administration of Frankincense during lactation.

Conclusion: The increased perikaryal volume in the hippocampal neurons of offsprings following maternal administration of Frankincense during lactation might be considered as an indicator of improved function of hippocampus, i.e. memory. It might be due to the increases in contents of neurons such as neurotransmitters, intracellular organelles or the number of synaptic contacts.

Keywords: Development, Frankincense, Hippocampus, Rat.

[1]Associate Professor, Department of Cell Biology and Anatomy, School of Medicine, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran

[2] Professor, Department of Anatomical Sciences and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

Corresponding Author Mohammad Hosseini Sharifabad PhD, Email: mhosseini81@yahoo.com