

Protective Effects of Frankincense Extract on the Histological Structure of the Hippocampus and Cerebellum in Rats Exposed to Acrylamide

Maede Boroumand¹, Elham Salehi^{*1}, Majid Morovati Sharifabad¹, Hamid Reza Moradi², Mohsen Rahidy²

¹Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ardakan University, Ardakan, Iran

²Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

Article Info:

Received: 9 July 2024

Revised: 26 Aug 2024

Accepted: 10 Sep 2024

ABSTRACT

Introduction: Acrylamide ($\text{CONH}_2\text{-CH=CH}_2$) is an odorless, white crystalline solid that dissolves in water and is widely used in industries such as cosmetics, adhesives, textiles, paper production, and laboratory research. It is also formed in fried foods prepared at high temperatures, with its concentration influenced by the food type, cooking method, temperature, and duration of heating. Acrylamide is neurotoxic and has been linked to carcinogenic effects in both laboratory animals and humans. This study investigates the potential protective effects of frankincense extract on the histological structure of the hippocampus and cerebellum in rats exposed to acrylamide. **Materials and Methods:** Twenty healthy adult male rats were divided into four groups: the control group, the frankincense extract group (25 mg/kg), the acrylamide group (20 mg/kg), and the acrylamide with frankincense extract group (20 mg/kg acrylamide and 25 mg/kg frankincense extract). All treatments were administered via daily gavage for 14 days. After the experimental period, the rats were weighed, and blood and brain tissue samples were collected for biochemistry and histological analysis. **Results:** Exposure to acrylamide significantly increased malondialdehyde (MDA) levels and decreased total antioxidant capacity (TAC) in serum compared to the control group. Concurrent administration of frankincense extract with acrylamide led to a significant reduction in MDA levels and an improvement in TAC values compared to the acrylamide-only group. Histological analysis revealed that the thickness of the cerebellar granular layer increased significantly in the frankincense extract group compared to the acrylamide group. **Conclusion:** The findings demonstrate that the alcoholic extract of frankincense exhibits strong antioxidant properties, effectively mitigating acrylamide-induced oxidative damage in brain tissue by scavenging free radicals. These results suggest that frankincense extract may serve as a protective agent against acrylamide toxicity in the hippocampus and cerebellum.

Keywords:

1. Neurotoxins
2. Cerebral Decortication
3. Nervous System
4. Animals

*Corresponding Author: Elham Salehi

Email: esalehi@ardakan.ac.ir

اثرات محافظتی عصاره کندر بر ساختار بافتی هیپوکامپ و مخچه در موش‌های صحرایی در معرض آکریل آمید

مأنده برومند^۱، الهام صالحی^{۱*}، مجید مروتی شریف آباد^۱، حمیدرضا مرادی^۲، محسن رشیدی^۲^۱گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه اردکان، اردکان، ایران
^۲گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

اطلاعات مقاله:

پذیرش: ۲۰ شهریور ۱۴۰۳

اصلاحیه: ۵ شهریور ۱۴۰۳

دریافت: ۱۹ تیر ۱۴۰۳

چکیده

مقدمه: آکریل آمید ($\text{CONH}_2\text{-CH=CH}_2$) یک ترکیب بی‌بو، جامد سفید و بلوری است که در آب حل می‌شود و در صنایع مختلفی مانند لوازم آرایشی، چسب‌ها، نساجی، تولید کاغذ و تحقیقات آزمایشگاهی به طور گسترده‌ای استفاده می‌شود. این ماده همچنین در غذاهای سرخ‌شده که در دمای بالا تهیه می‌شوند، تشکیل می‌شود و غلظت آن تحت تأثیر نوع غذا، روش پخت، دما و مدت زمان حرارت‌دهی قرار دارد. آکریل آمید یک ترکیب نورو توكسیك می‌باشد که اثرات سرطان‌زایی آن در حیوانات آزمایشگاهی و انسان‌ها مشاهده شده است. این مطالعه به بررسی اثرات محافظتی عصاره کندر بر ساختار بافتی هیپوکامپ و مخچه در موش‌های صحرایی که در معرض آکریل آمید قرار گرفته‌اند، پرداخته است.

مواد و روش‌ها: بیست موش صحرایی نر سالم بالغ به چهار گروه تقسیم شدند: گروه کنترل، گروه عصاره کندر (۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم)، گروه آکریل آمید (۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و گروه آکریل آمید به همراه عصاره کندر (۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم آکریل آمید و ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم عصاره کندر). تمام درمان‌ها از طریق گاوژ روزانه به مدت ۱۴ روز تجویز شدند. پس از دوره آزمایش، وزن موش‌ها اندازه‌گیری شد و نمونه‌های خون و بافت مغز برای تجزیه و تحلیل بیوشیمیایی و بافت‌شناسی جمع‌آوری شدند. **یافته‌ها:** قرار گرفتن در معرض آکریل آمید به طور قابل توجهی سطح مالوندی‌آلدئید (MDA) را افزایش داده و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (TAC) را، در مقایسه با گروه کنترل در سرم کاهش داد. تجویز هم‌زمان عصاره کندر با آکریل آمید باعث کاهش قابل توجهی در سطح MDA و بهبود مقادیر TAC در مقایسه با گروه فقط آکریل آمید شد. تحلیل‌های بافت‌شناسی نشان داد که ضخامت لایه گرانولار مخچه به طور قابل توجهی در گروه عصاره کندر نسبت به گروه آکریل آمید افزایش یافته است. **نتیجه‌گیری:** یافته‌ها نشان می‌دهند که عصاره الکلی کندر خواص آنتی‌اکسیدانی قوی دارد و به طور مؤثری آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از آکریل آمید در بافت مغز را با حذف رادیکال‌های آزاد کاهش می‌دهد. این نتایج نشان می‌دهند که عصاره کندر می‌تواند به عنوان یک عامل محافظتی در برابر سمیت آکریل آمید در هیپوکامپ و مخچه عمل کند.

واژه‌های کلیدی:

- ۱- سموم عصبی
- ۲- برش قشری مغزی
- ۳- سیستم عصبی
- ۴- حیوانات

*نویسنده مسئول: الهام صالحی

پست الکترونیک: esalehi@ardakan.ac.ir

مقدمه

در کنترل بیماری‌ها موفق‌تر از داروهای شیمیایی است. اسید بوسوولیک به‌عنوان ماده اصلی‌کننده با اثرات ضدالتهابی، به‌طور سنتی برای درمان بسیاری از بیماری‌های مرتبط با حافظه و یادگیری استفاده می‌شود (۱۱). به‌نظر می‌رسد کندر می‌تواند توانایی بالقوه‌ای برای استفاده به‌عنوان یک داروی طبیعی جایگزین نه تنها برای سرطان و بیماری‌های مزمن و التهابی بلکه برای بیماران مبتلا به اختلالات مغزی و حافظه داشته باشد. برخی از مطالعات نشان داده‌اند که استفاده از کندر می‌تواند باعث بهبود یادگیری و تقویت حافظه در حیوانات و انسان شود سطح بیان برخی از پروتئین‌های سیناپسی ممکن است به دنبال مصرف کندر تغییر کند (۱۲، ۱۳). تشکیلات هیپوکامپ بخشی از سیستم لیمبیک^{۱۱} است. دارای ساختاری تاخورد و در اعماق لوب گیجگاهی^{۱۲} جای گرفته که شامل سه ناحیه هیپوکامپوس، شکنج دندانهای^{۱۳} و سابیکولوم می‌باشد (۱۴، ۱۵). فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند یادگیری، حافظه و شناخت توسط نورونز هیپوکامپ در طول رشد و بلوغ نوروها با مصرف بالای کلسیم کنترل می‌شوند (۱۶). هدف از انجام این مطالعه بررسی تغییرات هیستولوژی^{۱۴} و هیستومتری^{۱۵} هیپوکامپ و مخچه موش‌های صحرایی دریافت‌کننده آکریل‌آمید، بررسی اثر محافظتی احتمالی عصاره کندر بر روی تغییرات هیستولوژی و هیستومتری هیپوکامپ و مخچه موش‌های صحرایی دریافت‌کننده آکریل‌آمید، بررسی اثر محافظتی احتمالی عصاره کندر بر تغییرات هیستولوژی و هیستومتری هیپوکامپ و مخچه موش‌های صحرایی سالم، ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم به منظور بررسی تأثیر عصاره کندر بر روی استرس اکسیداتیو ناشی از آکریل‌آمید در گروه‌های مختلف مطالعه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

آماده کردن موش‌ها و طرح مطالعه

برای مطالعه تجربی و آزمایشگاهی، ۲۰ سر موش صحرایی نر بالغ، با میانگین وزنی ۲۴۰-۱۹۰ گرم از مرکز تکثیر و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی پژوهشکده علوم تولید مثل یزد خریداری و به مدت ۱۴ روز در حیوان خانه دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه اردکان، در قفس‌های مخصوص از جنس پروپیلن و تحت شرایط محیطی و درجه حرارت مطلوب تقریباً 24 ± 3 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵۰ درصد و سیکل روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعت با شرایط جدید عادت داده شدند. قبل از شروع آزمایش، موش‌های صحرایی به‌طور تصادفی به ۴ گروه تقسیم شدند. تمام حیوانات با غذای استاندارد (پلیت)، در شرایط یکسان و به

آکریل‌آمید^۱ یا ۲-پروپن‌آمید (AA, C₃H₅NO) یک جامد کریستالی سفید محلول در آب با جرم مولکولی نسبی ۷۱/۰۸ کیلو دالتون است که معمولاً در صنایع مختلف استفاده می‌شود. در سال ۱۹۹۴، آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان، AA را به‌عنوان مواد شیمیایی صنعتی با خطر سرطان زایی^۲ بالقوه برای انسان فهرست کرد (۱، ۲). اثرات فلج‌کننده عصبی^۳ AA تنها اثر سمی است که از طریق قرار گرفتن در معرض شغل برای انسان ایجاد می‌شود و مضر است (۳). آکریل‌آمید به‌عنوان ایجادکننده اختلالات در سیستم عصبی مرکزی در انسان و حیوانات آزمایشگاهی شناخته شده است. یک ترکیب شیمیایی است که اثرات عصبی و ژنوتوکسیک^۴ از خود نشان می‌دهد و باعث علائم عصبی مانند لرزش، ضعف عمومی، بی‌حسی، گزگز در اندام‌ها یا آتاکسی^۵ می‌شود (۴، ۵). مطالعات علمی متعددی اثر AA را بر پایانه‌های عصبی و ارتباط نزدیک آن با سیستم کولینرژیک^۶ نشان می‌دهد. سیستم کولینرژیک بخشی از سیستم عصبی خودمختار است که عملکردهای بالاتر قشر مربوط به حافظه، یادگیری، تمرکز و توجه را تنظیم می‌کند (۶). افزایش سطح استیل کولین^۷ (ACH) ناشی از استرس باعث کاهش پاسخ التهابی و بازبایی هموستاز می‌شود. با توجه به اثر نوروتوکسیک آکریل‌آمید که مربوط به اختلال در ترشح انتقال دهنده‌های عصبی است و تأثیر آن بر اختلال در فعالیت استیل کولین استراز^۸، می‌توان نتیجه گرفت که پاسخ التهابی طبیعی را مختل می‌کند (۷).

از طرفی کندر *Boswellia* صمغ خشک شده‌ای است که از درختی متعلق به خانواده Burseraceae به دست می‌آید. این درخت بومی منطقه شبه جزیره عربستان، شمال شرقی آفریقا و هند است. صمغ کندر از زمان‌های بسیار قدیم در دنیای باستان در طب عامیانه و در مراسم مذهبی به‌عنوان ماده بخور استفاده می‌شده است (۸). در طب سنتی، اعتقاد بر این است که کندر در افراد مسن برای تقویت حافظه و در زنان باردار برای افزایش حافظه و هوش فرزندان مفید است (۹). یک بررسی سیستماتیک^۹ بر روی فعالیت‌های ضد التهابی و ضد سرطانی گونه‌های *Boswellia* و ترکیبات شیمیایی آن‌ها انجام داده شد که استرس اکسیداتیو^{۱۰} را مهار می‌کند. علاوه بر این، کندر انتقال سیگنال سلولی را تعدیل می‌کند که مسئول توقف چرخه سلولی و مهار تکثیر، رگ‌زایی، تهاجم و متاستاز است (۱۰). خواص ضد التهابی، ضد توموری، ضد درد و سایر خواص درمانی آن‌ها گاهی اوقات به دلیل مقاومت دارویی و عوارض جانبی کمتر و قابل تحمل‌تر بودن در طولانی مدت،

¹ Acrylamide² Carcinogen³ Neurotoxic⁴ Genotoxic⁵ Ataxia⁶ Cholinergic System⁷ Acetylcholine⁸ Acetylcholinesterase⁹ Systematics¹⁰ Oxidative stress¹¹ Limbic system¹² Temporal lobe¹³ Dentate gyrus¹⁴ Histology¹⁵ Histometric

مراحل آماده سازی را جهت مطالعات بافتی طی نمایند.

ارزیابی MDA و TAC در سرم

گونه‌های فعال اکسیژن^{۱۸} (ROS) که شامل مولکول‌های بسیار فعال واجد اکسیژن هستند، از ترکیبات اکسیدکننده رایج محسوب می‌شوند. این ترکیبات با حمله به مولکول‌های مختلف، ضمن اکسید کردن آن‌ها محصولات اکسید شده‌ی ثانویه نیز تولید می‌کنند. لیپیدها مهم‌ترین دسته از بیومولکول‌هایی هستند که هدف گونه‌های فعال اکسیژن قرار می‌گیرند. در واقع تخریب اکسیداتیو لیپیدها توسط گونه‌های فعال اکسیژن، پراکسیداسیون لیپیدی نامیده می‌شود. پراکسیداسیون لیپیدی معمولاً روی اسیدهای چرب غیراشباع صورت می‌گیرد و محصول نهایی آن آلدئیدهای فعال مانند مالون دی آلدئید (MDA) می‌باشد. در نتیجه مالون دی آلدئید یکی از عواملی می‌باشد که در اثر پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب مستقیم مواد اکسیدانی به اسیدهای چرب با زنجیره غیر اشباع سلولی ایجاد می‌شود. بیماری‌های زیادی مانند آترواسکلروز، دیابت و آلزایمر رابطه مستقیمی با این ماده دارند. در این آزمایش مالون دی آلدئید با تیوباربیتوریک اسید کمپلکس تشکیل داده و در طول موج نوری ۵۳۵ جذب دارد. برای سنجش میزان آسیب یا استرس اکسیداتیو از کیت مالون دی آلدئید MDA، محصول شرکت کارمانیا پارس ژن، ایران طبق دستورالعمل این شرکت استفاده شد که بر اساس این روش تعامل TBA با MDA (در نمونه‌ها و استانداردها) منجر به تولید رنگ می‌شود که در طول موج ۵۳۵ نانومتر ارزیابی می‌شود.

ظرفیت تام آنتی اکسیدانی TAC اشاره به میزان کلی مواد آنتی اکسیدانی در نمونه بیولوژیک دارد و تغییرات آن سهم بزرگی در ایجاد بیماری‌های مرتبط با افزایش رادیکال‌های آزاد دارد. آنتی اکسیدان‌ها اولین سد دفاعی بدن در مقابل رادیکال‌های آزاد هستند که خود موجب بسیاری از بیماری‌ها می‌باشند. ظرفیت تام آنتی اکسیدانی با مکانیزم احیای کوپریک (Cu²⁺) در حضور آنتی اکسیدان‌ها به کوپرو (Cu⁺) انجام می‌شود. این رنگ در طول موج ۴۵۰ نانومتر جذب دارد و قابل خوانش است. مزیت این روش اندازه‌گیری آنتی اکسیدان‌هایی همچون تیول می‌باشد که در روش‌هایی همچون FRAP مشخص نمی‌شوند. میزان جذب با مقدار آنتی اکسیدان رابطه مستقیم دارد. برای اندازه‌گیری ظرفیت تام اکسیدانی TAC از کیت محصول شرکت کارمانیا پارس ژن، ایران بر اساس راهنمای کیت استفاده شد و در نهایت OD آن در طول موج ۵۹۳ نانومتر مورد ارزیابی قرار گرفت.

نسبت‌های برابر تغذیه شدند و امکان دسترسی آزاد به آب برای آن‌ها وجود داشت. اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی در مطالعه حاضر طبق دستورالعمل اصول و موازین اخلاقی در پژوهش‌های علوم زیستی دانشگاه یزد در تمام مراحل تحقیق رعایت گردید. از پودر کندر به روش پرکولاسیون به نسبت دو برابر پودر، الکل ۷۰ درصد اضافه گردید به مدت ۷۲ ساعت خیسانده و سپس از کاغذ صافی عبور داده شد، بعد از آن به وسیله دستگاه روتاری جداسازی حلال در دمای ۵۳ درجه و کنترل شدت تبخیر ۱۰۰ میلی بار تا زمانی که محلول غلیظ شود و حالت مربایی بگیرد، انجام گرفت. محلول حاصل روی سینی مخصوص و به مدت ۴۸ الی ۷۲ ساعت در آن قرار داده شد. با حصول حالت کریستالی، آنرا با تیغ مخصوص از سینی جدا کرده و در هاون کوبیده شد تا پودر حاصل گردد. در نهایت دوز ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره کندر برای هر موش صحرایی به صورت روزانه گاواژ شد. آکريل آميد (مرك، آلمان) با دوز ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن موش‌های صحرایی به صورت روزانه گاواژ شد. گروه بندی موش‌های صحرایی در مطالعه حاضر به شرح زیر است ۱: گروه کنترل (بدون تیمار) روزانه نیم سیسی آب مقطر به صورت گاواژ به مدت ۱۴ روز دریافت کردند ۲: گروه آکريل آميد که روزانه آکريل آميد را با دوز ۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم محلول در آب به صورت گاواژ به مدت ۱۴ روز دریافت کردند ۳: گروه آکريل آميد+ عصاره کندر که روزانه آکريل آميد با دوز ۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم همزمان با عصاره کندر با دوز ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم به صورت گاواژ به مدت ۱۴ روز دریافت کردند ۴: گروه کندر که عصاره کندر با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم را به صورت گاواژ به مدت ۱۴ روز دریافت کردند تمامی گروه‌ها در روز ۱۵، یک روز بعد از آخرین گاواژ وزن شده سپس به وسیله کلروفرم بیهوش شدند و از قلب خون‌گیری شد. برای بدست آوردن سرم شفاف و فاقد همولیز، نمونه‌های خون در دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. بعد از سانتریفیوژ توسط سمپلر به داخل میکروتیوب انتقال داده شده و سر میکروتیوب‌ها با پارافیلیم بسته شد و جهت انجام آزمایشات سرمی برای سنجش آنزیم مالون دی آلدئید MDA^{۱۶} و ظرفیت تام اکسیدانی TAC^{۱۷} به فریزر -۷۰ درجه سانتیگراد منتقل شدند. سپس مغز موش‌های صحرایی به دقت و سریع از بافت‌های اطراف جدا و خارج شده و به وسیله ترازوی حساس با دقت یک ده هزارم وزن گردیدند. در نهایت مخ از مخچه جدا شده و هر دو به محلول فرمالین ۱۰ درصد منتقل شدند تا

^{۱۶} Malondialdehyde

^{۱۷} Total Antioxidant Capacity

^{۱۸} Reactive Oxygen Species

ارزیابی بافت شناسی

آنالیز آماری

داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شدند. جهت آنالیز و مقایسه میانگین‌ها در گروه‌های تحت مطالعه از نرم‌افزار SPSS و با روش واریانس یک طرفه One-way ANOVA استفاده شد و مواردی که $P \leq 0/05$ باشد معنی‌دار تلقی شدند.

یافته‌ها

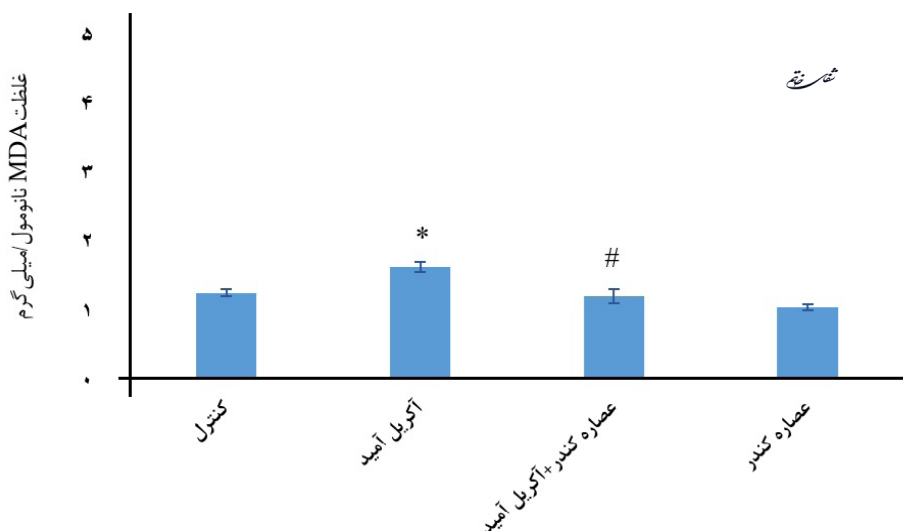
ارزیابی غلظت MDA در بافت مغز

در نتایج ارزیابی غلظت MDA در بافت مغز در گروه آکریل آمید با دوز ۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم همان‌طور که در نتایج ارزیابی نمودار ۱ مشاهده می‌گردد گروه آکریل آمید با دوز ۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم با میانگین $\pm 0/07$ $1/63$ نانومول/ میلی‌گرم در مقایسه با گروه کنترل با میانگین $\pm 0/05$ $1/26$ نانومول/ میلی‌گرم افزایش نشان داد که از لحاظ آماری این افزایش معنی‌دار بود ($P < 0/05$)، گروه دریافت کننده عصاره کندر با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به صورت روزانه با میانگین $\pm 0/05$ $1/05$ نانومول/ میلی‌گرم دارای کمترین غلظت MDA در بافت مغز مشاهده گردید که از لحاظ آماری این کاهش معنی‌دار نبود. همچنین، غلظت MDA در گروه دریافت کننده عصاره کندر با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به همراه آکریل آمید با دوز ۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم با میانگین $\pm 0/01$ $1/21$ نانومول/ میلی‌گرم دیده شد که در مقایسه با گروه آکریل آمید کاهش داشت که این کاهش از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($P < 0/05$). (نمودار ۱).

ارزیابی غلظت TAC در بافت مغز

در نتایج ارزیابی غلظت TAC در بافت مغز در گروه کنترل با میانگین $\pm 0/02$ $0/28$ نانومول/ میلی‌گرم بیشترین مقدار را ثبت نموده که با گروه دریافت کننده عصاره کندر با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به صورت روزانه با تعداد میانگین $\pm 0/02$ $0/23$ نانومول/ میلی‌گرم

برای تهیه مقاطع بافت مخ و مخچه درون محلول فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفتند پس از ۷۲ ساعت فرمالین ظرفها ۳ مرتبه تعویض شدند سپس توسط دستگاه تیشو پروسسور مراحل مختلف پاساژ بافتی شامل آگیری، شفاف‌سازی و آغستگی به پارافین انجام گرفت. سپس نمونه‌ها قالب‌گیری شده و با استفاده از میکروتوم دورانی برش‌هایی با ضخامت ۵-۶ میکرومتر تهیه و با روش‌های هماتوکسیلین-ئوزین (H&E) و لوکسال فست بلو رنگ‌آمیزی شدند. روش رنگ‌آمیزی لوکسال فست بلو به منظور تمایز بهتر سلول‌ها در شمارش تعداد آنها بکار گرفته شد. رنگ آمیزی لوکسال فست بلو، یکی از رنگ آمیزی‌های کاربردی در آزمایشگاه پاتولوژی و بافت شناسی برای رنگ آمیزی میلین و آکسون‌های میلین در سیستم عصبی مرکزی و مشاهده آن‌ها زیر میکروسکوپ نوری می‌باشد. لوکسال فست بلو با نام اختصاری LFB^{۱۹} به علت تمایل به لیپوپروتئین‌ها، با روی دادن یک واکنش اسیدی- بازی میلین‌های نورون‌ها را رنگ آمیزی می‌کند. لوکسال فست بلو یک رنگ فتالوسیانیین مس است که حلال در الکل است و به بازهای موجود در لیپوپروتئین‌های غلاف میلین متصل می‌شود. با استفاده از میکروسکوپ نوری ساختار بافت شناسی هیپوکامپ شامل ضخامت لایه‌های گرانولار و مولکولار ناحیه CA1، ضخامت لایه‌های مولکولار و گرانولار ناحیه شکنج دنداندار، ضخامت لایه‌های مولکولار و گرانولار مخچه و نیز شمارش تعداد نورون‌های پیرامیدال مورد بررسی قرار گرفت. برای مطالعات هیستومتری از لنز دیجیتال Dino-lite و نرم‌افزار Dino Capture 2 استفاده شد. برای شمارش و اندازه‌گیری هر یک از مشخصه‌های مورد مطالعه، حداقل ۲۰ میدان دید به صورت تصادفی از ۲ مقطع بافتی هر یک از نمونه‌ها اندازه‌گیری و میانگین آنها برای هر مشخصه محاسبه گردید.



نمودار ۱- Mean $\pm$ SE و ارزیابی غلظت MDA در بافت مغز. معنی‌داری با گروه کنترل با علامت* و معنی‌داری با گروه آکریل آمید با علامت# نشان داده شده است ($P < 0/05$). تعداد نمونه‌ها در هر گروه برابر با ۵ سرموش می‌باشد.

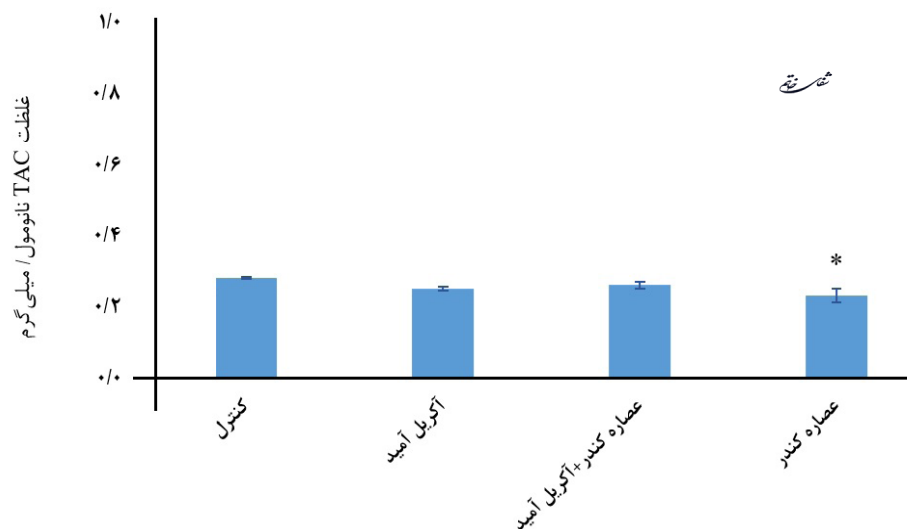
نتایج شمارش تعداد نورون‌های پیرامیدال هیپوکامپ

همان‌طور که در نتایج میکرومتری مربوط به شمارش تعداد نورون‌های پیرامیدال در مقیاس ثابت هیپوکامپ در نمودار ۳ مشاهده می‌گردد گروه آکريل آميد با دوز ۲۰ میلی گرم/کیلوگرم با تعداد میانگین $1106 \pm 20/56$ در مقایسه با گروه کنترل با تعداد میانگین $2114 \pm 26/39$ کاهش نشان داد اما از لحاظ آماری این کاهش معنی‌دار نبود. گروه دریافت کننده عصاره کندر با دوز ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم به صورت روزانه با تعداد میانگین $2978 \pm 2/22$ دارای بیشترین تعداد نورون‌های پیرامیدال در مقیاس ثابت هیپوکامپ مشاهده شد. از لحاظ آماری، این افزایش تعداد نورون‌های پیرامیدال در مقایسه با گروه آکريل آميد معنی‌دار ($P < 0/05$)، اما با گروه‌ها کنترل و گروه دریافت کننده اکریلامید با دوز ۲۰ میلی گرم/کیلوگرم به همراه عصاره کندر با دوز ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم این افزایش معنی‌دار نبود (نمودار ۳).

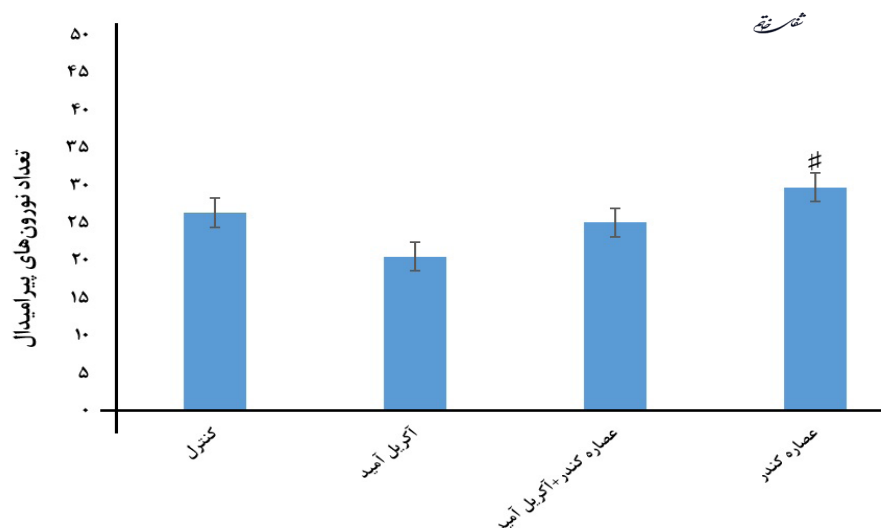
دارای کمترین غلظت TAC در بافت مغز می باشد که از لحاظ آماری این کاهش معنی دار بود ($P < 0/05$). گروه های آکريل آميد با دوز ۲۰ میلی گرم/کیلوگرم با میانگین $0/25 \pm 0/06$ نانومول/میلی گرم و دریافت کننده عصاره کندر با دوز ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم به همراه آکريل آميد با دوز ۲۰ میلی گرم/کیلوگرم با میانگین $0/26 \pm 0/09$ نانومول/میلی گرم طبق نمودار به ثبت رساندند.

بافت شناسی

در برش‌های بافتی هیپوکامپ، به صورت یک منحنی S مانند در شکنج دنداندار مشاهده گردید. شکنج دنداندار لایه‌های متراکم از سلول‌های گرانولار مشاهده شد. هیپوکامپ نیز شامل نورون‌های پیرامیدالی است که در نواحی CA1، CA2، CA3 و CA4 قرار گرفتند. ناحیه CA4 (فاقد مورفولوژی نورون‌های پیرامیدال) در نزدیکترین لایه به شکنج دنداندار و ناحیه CA1 هیپوکامپ در دورترین حالت به شکنج دنداندار دیده شدند.



نمودار ۲- Mean±SE و ارزیابی غلظت TAC در بافت مغز. معنی‌داری با گروه کنترل با علامت* و معنی‌داری با گروه آکريل آميد با علامت # نشان داده شده است ($P < 0/05$).



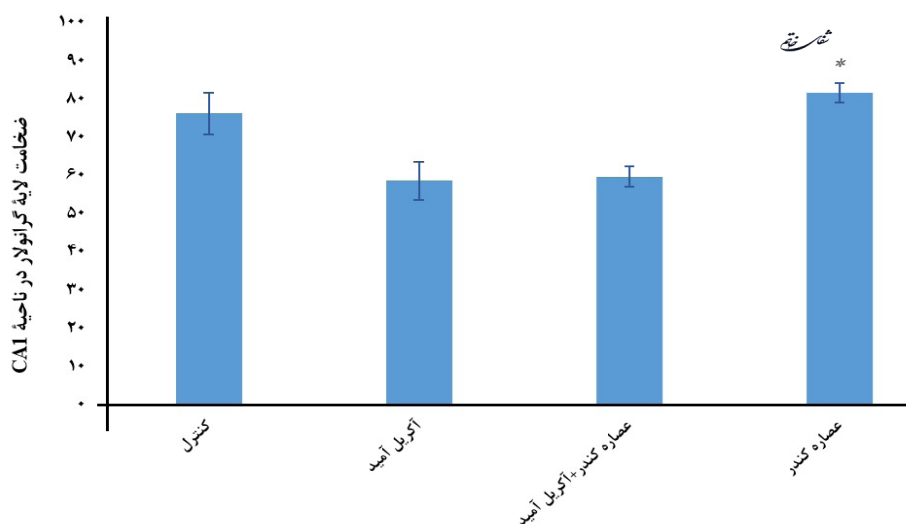
نمودار ۳- Mean±SE و تعداد نورون‌های پیرامیدال در مقیاس ثابت بافت هیپوکامپ. معنی‌داری با گروه کنترل با علامت* و معنی‌داری با گروه آکريل آميد با علامت # نشان داده شده است ($P < 0/05$).

ضخامت $2/69 \pm 59/83$ میکرومتر دیده شدند (نمودار ۴).
 نتایج مربوط به ضخامت لایه مولکولار هیپوکامپ

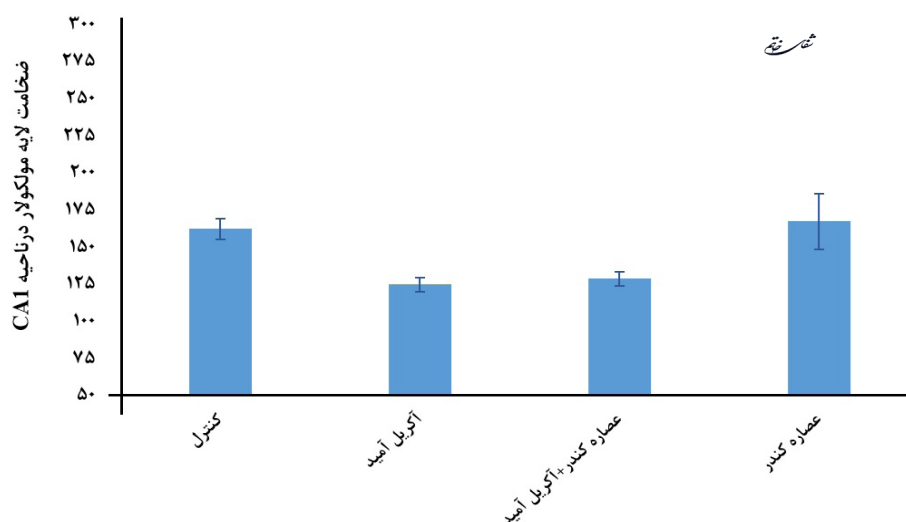
در نتایج میکرومتری مربوط به ضخامت لایه مولکولار هیپوکامپ در گروه آکريل آمید با دوز ۲۰ میلی گرم/کیلوگرم ($4/82 \pm 124/73$ میکرومتر) در مقایسه با سایر گروههای مطالعه کاهش دیده شد، اما این کاهش از لحاظ آماری معنی دار نبود. گروه کنترل با میانگین ضخامت $7/07 \pm 162/11$ میکرومتر، گروه دریافت کننده عصاره کندر با دوز ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم با میانگین ضخامت $18/85 \pm 167/24$ میکرومتر و گروه دریافت کننده عصاره کندر با دوز ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم به همراه آکريل آمید با دوز ۲۰ میلی گرم/کیلوگرم با میانگین ضخامت $4/74 \pm 128/73$ میکرومتر دیده شدند (نمودار ۵).

نتایج مربوط به ضخامت لایه هیپو گرانولار هیپوکامپ

در نتایج میکرومتری مربوط به ضخامت لایه گرانولار هیپوکامپ در گروه آکريل آمید با دوز ۲۰ میلی گرم/کیلوگرم ($4/96 \pm 58/76$ میکرومتر) در مقایسه با سایر گروههای مطالعه کاهش دیده شد، که این کاهش تنها با گروه دریافت کننده عصاره کندر با دوز ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم ($2/5 \pm 81/84$) معنی دار ($P < 0/05$)، اما با گروههای کنترل و دریافت کننده آکريل آمید و عصاره کندر از لحاظ آماری معنی دار نبود. گروه کنترل با میانگین ضخامت $44/39 \pm 76/39$ میکرومتر، گروه دریافت کننده عصاره کندر با دوز ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم با میانگین ضخامت $2/5 \pm 81/84$ میکرومتر و گروه دریافت کننده عصاره کندر با دوز ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم به همراه آکريل آمید با دوز ۲۰ میلی گرم/کیلوگرم با میانگین



نمودار ۴- Mean±SE و ضخامت لایه گرانولار در ناحیه CA1 بافت هیپوکامپ. معنی داری با گروه کنترل با علامت * و معنی داری با گروه آکريل آمید با علامت # نشان داده شده است ($P < 0/05$).



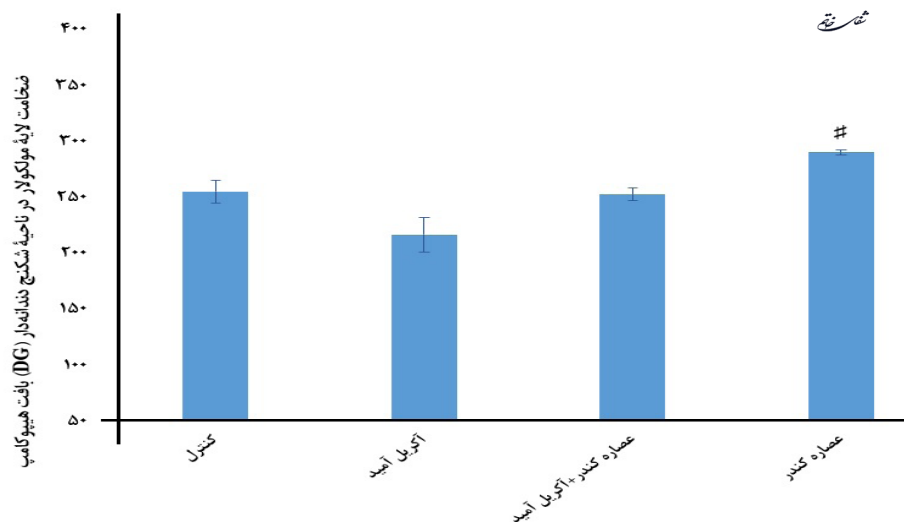
نمودار ۵- Mean±SE و ضخامت لایه مولکولار در ناحیه CA1 بافت هیپوکامپ. معنی داری با گروه کنترل با علامت * و معنی داری با گروه آکريل آمید با علامت # نشان داده شده است ($P < 0/05$).

نتایج مربوط به ضخامت لایه مولکولار شکنج دندانهدار هیپوکمپ

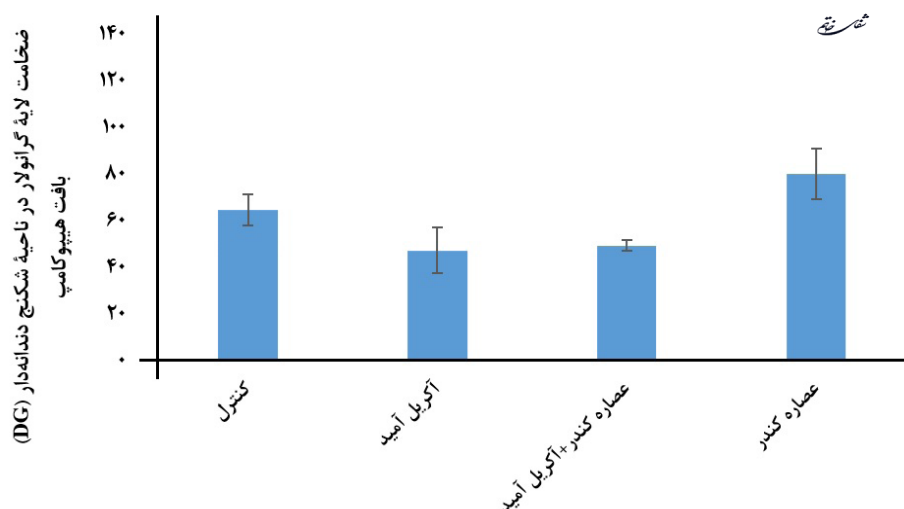
در نتایج میکرومتری مربوط به ضخامت لایه مولکولار شکنج دندانهدار (DG) هیپوکمپ در گروه آکريل آميد با دوز ۲۰ میلی گرم/کیلوگرم ($15/61 \pm 216/14$ میکرومتر) در مقایسه با سایر گروه‌های مطالعه کاهش دیده شد، که این کاهش با گروه دریافت کننده عصاره کندر با دوز ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم از لحاظ آماری معنی دار ($P < 0/05$)، اما با گروه‌های کنترل و دریافت کننده آکريل آميد و عصاره کندر از لحاظ آماری معنی دار نبود. گروه کنترل با میانگین ضخامت $254/73 \pm 10/32$ میکرومتر، گروه دریافت کننده عصاره کندر با دوز ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم با میانگین ضخامت $289/78 \pm 2/58$ میکرومتر و گروه دریافت کننده عصاره کندر با دوز ۲۰ میلی گرم/کیلوگرم به همراه آکريل آميد با دوز ۲۰ میلی گرم/کیلوگرم با میانگین ضخامت

نتایج مربوط به ضخامت لایه گرانولار شکنج دندانهدار هیپوکمپ

در نتایج میکرومتری مربوط به ضخامت لایه گرانولار شکنج دندانهدار (DG) هیپوکمپ در گروه آکريل آميد با دوز ۲۰ میلی گرم/کیلوگرم ($47/17 \pm 9/84$ میکرومتر) در مقایسه با سایر گروه‌ها کاهش نشان داد. اما از لحاظ آماری این کاهش در مقایسه با گروه‌های کنترل، عصاره کندر با دوز ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم ($79/99 \pm 10/73$ میکرومتر) و عصاره کندر با دوز ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم به همراه آکريل آميد با دوز ۲۰ mg/kg ($49/33 \pm 2/21$ میکرومتر) معنی دار نبود. گروه دریافت کننده عصاره کندر با دوز ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم در مقایسه با گروه کنترل با میانگین ضخامت $64/41 \pm 6/68$ میکرومتر افزایش نشان دادند که از لحاظ آماری این تفاوت‌ها معنی دار نبودند. (نمودار ۷).



نمودار ۶- Mean±SE و ضخامت لایه مولکولار در ناحیه شکنج دندانهدار (DG) بافت هیپوکامپ. معنی داری با گروه کنترل با علامت* و معنی داری با گروه آکريل آميد با علامت # نشان داده شده است. ($P < 0/05$).



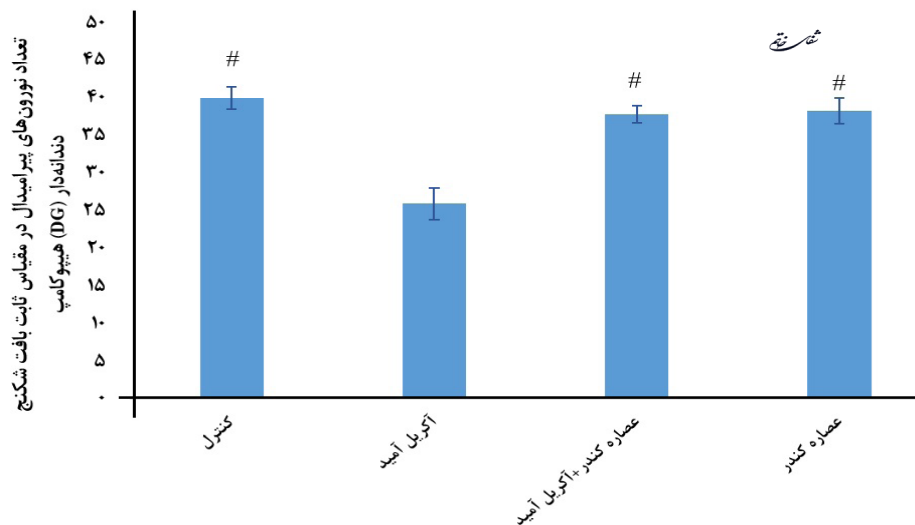
نمودار ۷- Mean±SE و ضخامت لایه گرانولار در ناحیه شکنج دندانهدار (DG) بافت هیپوکامپ. معنی داری با گروه کنترل با علامت* و معنی داری با گروه آکريل آميد با علامت # نشان داده شده است. ($P < 0/05$).

نتایج بافت شناسی $38/33 \pm 1/71$ معنی‌دار بود ($P < 0/05$) (نمودار ۸).

در برش‌های بافتی هیپوکامپ، به صورت یک منحنی S مانند در شکنج دنداندار مشاهده گردید. شکنج دنداندار لایه‌های متراکم از سلول‌های گرانولار مشاهده شد. هیپوکامپ نیز شامل نورون‌های پیرامیدالی است که در نواحی CA1، CA2، CA3 و CA4 قرار گرفت‌اند. ناحیه CA4 (فاقد مورفولوژی نورون‌های پیرامیدال) در نزدیکترین لایه به شکنج دنداندار و ناحیه CA1 هیپوکامپ در دورترین حالت به شکنج دنداندار دیده شدند (تصویر ۱).

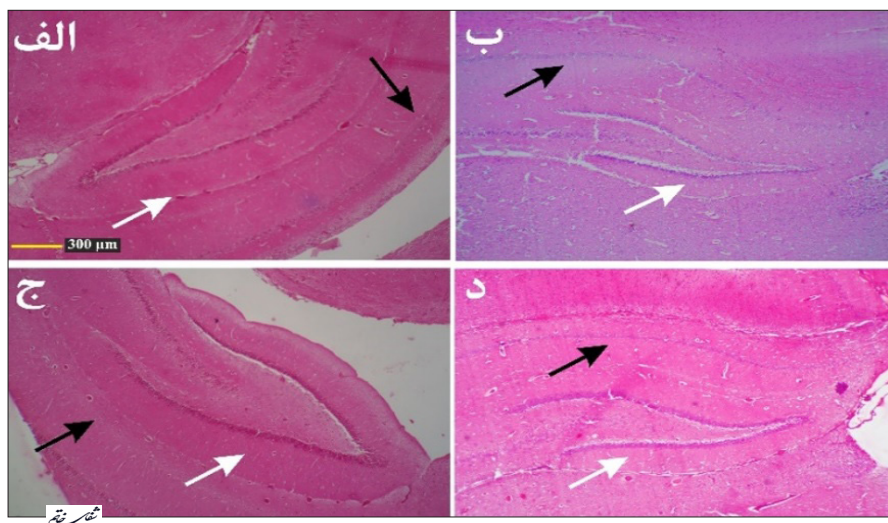
نتایج مربوط به شمارش تعداد نورون‌های در مقیاس ثابت شکنج دنداندار هیپوکامپ

در نتایج میکرومتری مربوط به شمارش تعداد نورون‌های پیرامیدال در مقیاس ثابت شکنج دنداندار (DG) هیپوکامپ در نمودار ۸ مشاهده می‌گردد گروه آکریل آمید با دوز ۲۰ میلی گرم/کیلوگرم با تعداد میانگین $25/94 \pm 2/13$ در مقایسه با سایر گروه‌ها کاهش نشان داد، که این کاهش از لحاظ آماری با گروه کنترل با تعداد میانگین $39/99 \pm 1/5$ ، گروه دریافت کننده آکریل آمید+عصاره کندر با تعداد میانگین $37/83 \pm 1/18$ و گروه دریافت کننده عصاره کندر با تعداد میانگین



نمودار ۸- Mean±SE و تعداد نورون‌های پیرامیدال در مقیاس ثابت بافت شکنج دنداندار (DG) هیپوکامپ. معنی‌داری با گروه کنترل با علامت * و معنی‌داری با گروه آکریل آمید با علامت # نشان داده شده است. ($P < 0/05$).

تصویر ۱- ساختار بافتی هیپوکامپ موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف مطالعه (رنگ‌آمیزی H&E). موقعیت ناحیه CA1 هیپوکامپ نسبت به DG در گروه‌های مختلف مطالعه قابل مشاهده است. لایه‌های گرانولار و مولکولار در هر دو ناحیه CA1 (فلش مشکی) و DG (فلش سفید) با تراکم سلولی آن‌ها قابل مشاهده و تفکیک است. الف: گروه کنترل، ب: گروه آکریل آمید، ج: گروه عصاره کندر و د: گروه آکریل آمید+عصاره کندر الف: کنترل سالم ب: آکریل آمید ج: عصاره کندر د: آکریل آمید+عصاره کندر.



نتایج مربوط به ضخامت لایه گرانولار بافت مخچه

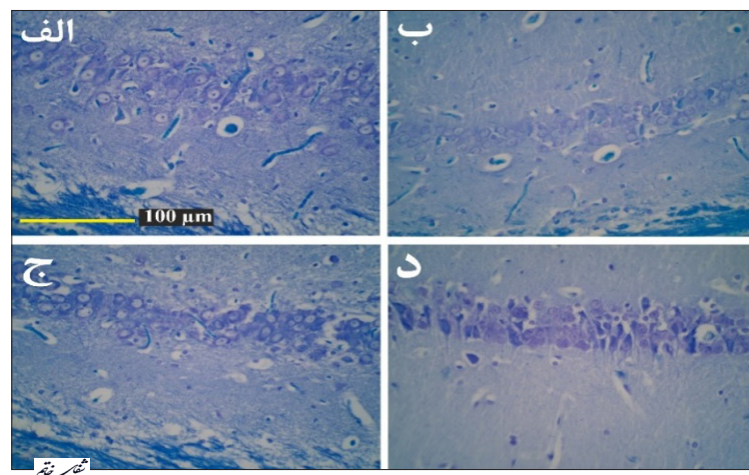
در نتایج میکرومتری مربوط به ضخامت لایه گرانولار بافت مخچه در گروه آکريل آمید با دوز ۲۰ میلی گرم/کیلوگرم ($9/32 \pm 150/45$ میکرومتر) در مقایسه با سایر گروه‌های مطالعه کاهش دیده شد، که این کاهش از لحاظ آماری معنی دار نبود. گروه کنترل با میانگین ضخامت $7/49 \pm 176/56$ میکرومتر، گروه دریافت کننده عصاره کندر با دوز ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم با میانگین ضخامت $16/52 \pm 192/56$ میکرومتر و گروه دریافت کننده عصاره کندر با دوز ۲۰ میلی گرم/کیلوگرم با همراه آکريل آمید با دوز ۲۰ میلی گرم/کیلوگرم

نورون‌های پیرامیدال هیپوکامپ در رنگ آمیزی H&E و لوکسالفستیلو دارای سیتوپلاسم اندک و زوائد سلولی مثلثی شکل با هسته گرد مرکزی و حالت کاملاً یوکروماتین با هستک مشخص دیده شدند (تصویر ۲).

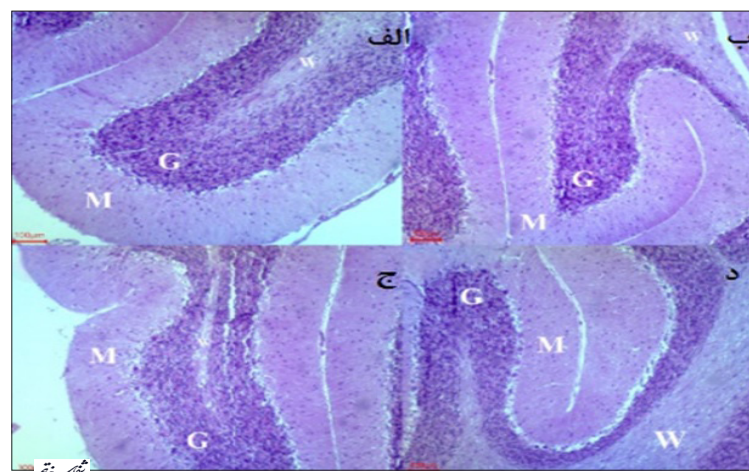
نتایج بافت شناسی مخچه

در برش‌های بافتی مخچه، موقعیت لایه گرانولار و مولکولار در بخش ماده خاکستری (Gray matter) در گروه‌های مختلف مطالعه قابل مشاهده است. W نشان دهنده ماده سفید (White matter) است. لایه گرانولار با حرف G و لایه مولکولار با حرف M با تراکم سلولی آنها قابل مشاهده و تفکیک است.

تصویر ۲- سلول‌های پیرامیدال ناحیه گرانولار CA1 هیپوکامپ موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف مطالعه (رنگ‌آمیزی Luxol fast blue). نورون‌های پیرامیدال هیپوکامپ با سیتوپلاسم اندک و زوائد سلولی مثلثی شکل قابل مشاهده هستند. این سلول‌ها با هسته گرد مرکزی و حالت کاملاً یوکروماتین و هستک مشخص دیده شدند. همانطور که قابل مشاهده است تعداد نورون‌های پیرامیدال در گروه آکريل آمید (ب) در مقایسه با سایر گروه‌های مطالعه کاهش نشان می‌دهد. الف: گروه کنترل سالم، ج: گروه عصاره کندر و د: گروه آکريل آمید+عصاره کندر.



تصویر ۳- ساختار بافتی مخچه موش‌های صحرایی در گروه‌های مختلف مطالعه (رنگ‌آمیزی H&E). موقعیت لایه گرانولار و مولکولار در بخش ماده خاکستری (Gray matter) در گروه‌های مختلف مطالعه قابل مشاهده است. W نشان دهنده ماده سفید (White matter) می‌باشد. لایه گرانولار با حرف G و لایه مولکولار با حرف M با تراکم سلولی آنها قابل مشاهده و تفکیک است. الف: گروه کنترل، ب: گروه آکريل آمید، ج: گروه آکريل آمید+عصاره کندر و د: گروه عصاره کندر.



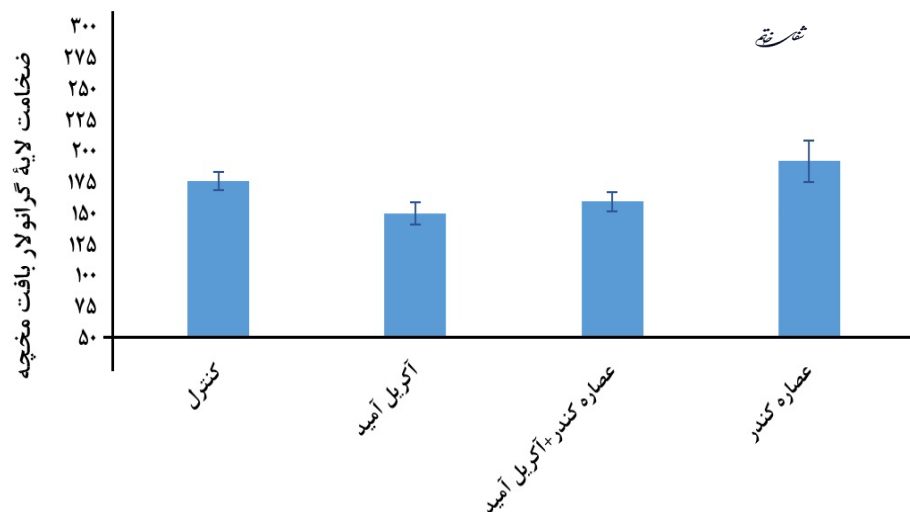
بحث و نتیجه گیری

مطالعه حاضر به ارزیابی اثرات محافظتی عصاره گیاه کندر بر بر ساختار بافتی هیپوکامپ و مخچه موش صحرایی مواجهه شده با آکریل آمید متمرکز شده است. در طی ۲۸ روز تاثیر آکریل آمید بر گروه های مورد مطالعه اثرات کاهش ضخامت لایه گرانولار در ناحیه CA1 بافت هیپوکامپ، کاهش تعداد نورون های پیرامیدال در مقياس ثابت شكنج دندانهدار (DG) هیپوکامپ، کاهش ضخامت لایه مولکولار بافت مخچه را دربر داشت. اثرات تخریبی عصبی آکریل آمید پیش از این نیز در مطالعاتی همسو با پژوهش حاضر نشان داده شده است (۷، ۱۷). GSH یک آنتی اکسیدان مهم است که از آسیب سلولی ناشی از گونه های فعال اکسیژن مانند پراکسیدها، رادیکال های آزاد، فلزات سنگین و پراکسیدهای لیپیدی جلوگیری می کند. GST گروهی از آنزیم ها است که عمدتاً در سم زدایی آنتی بیوتیک ها،

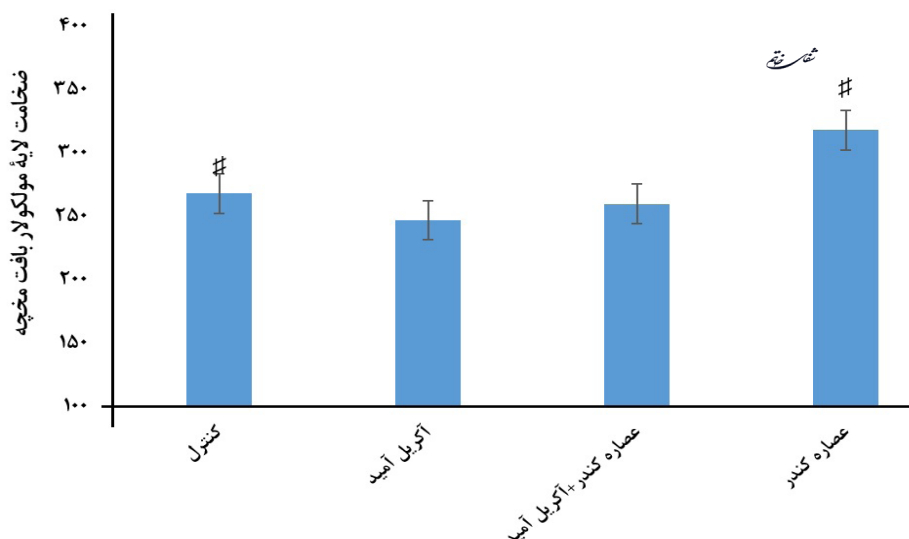
میانگین ضخامت $159/8 \pm 7/75$ میکرومتر دیده شدند.

نتایج مربوط به ضخامت لایه مولکولار بافت مخچه

در نتایج میکرومتری مربوط به ضخامت لایه مولکولار بافت مخچه در گروه آکریل آمید با دوز ۲۰ میلی گرم/کیلوگرم با میانگین ضخامت $246/49 \pm 8/02$ میکرومتر در مقایسه با سایر گروه های مطالعه کاهش دیده شد، که این کاهش از لحاظ آماری با گروه دریافت کننده عصاره کندر با دوز ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم با میانگین ضخامت $317/69 \pm 11/09$ و گروه کنترل با ضخامت $267/62 \pm 15/38$ معنی دار بود ($P < 0/05$)، اما این کاهش از لحاظ آماری با گروه دریافت کننده عصاره کندر با دوز ۱۰۰ میلی گرم/کیلوگرم به همراه آکریل آمید با دوز ۲۰ میلی گرم/کیلوگرم با میانگین ضخامت $259/34 \pm 15/18$ میکرومتر معنی دار نبود (نمودار ۱۰).



نمودار ۹- Mean±SE و ضخامت لایه گرانولار بافت مخچه. تفاوت معنی داری از لحاظ آماری بین گروه های مطالعه مشاهده نشدند. * معنی داری با گروه کنترل با علامت * و معنی داری با گروه آکریل آمید با علامت # نشان داده شده است ($P < 0/05$).



نمودار ۱۰- Mean±SE و ضخامت لایه مولکولار بافت مخچه. معنی داری با گروه کنترل با علامت * و معنی داری با گروه آکریل آمید با علامت # نشان داده شده است ($P < 0/05$).

به عنوان تعدیل کننده چندین مکانیسم در گیر در آسیب شناسی بیماری های عصبی ارائه داده شده است. کندر با اثرات ضد التهابی، ضد آرتریست^{۲۰}، ضد تکثیر، ضد میکروبی، ضد درد و خواص آنتی اکسیدانی، ضد التهابی، ضد آمیلوئیدوزنیک^{۲۱} و ضد آپوپتوز^{۲۲} با حداقل عوارض و دوز توصیه شده می تواند علائم بسیاری از بیماری ها را در طب سنتی و جدید کاهش دهد. همچنین، فعالیت ضد التهابی و ضد سرطانی آن موجب مهار استرس اکسیداتیو می شود. اثر ضد التهابی ماده اصلی آن، اسید بوسولیک، به طور سنتی برای درمان بسیاری از بیماری ها، به ویژه آن هایی که عملکردهای حافظه را هدف قرار می دهند، استفاده می شود (۲۱-۱۹، ۱۱، ۱۰). خواص ضد التهابی، ضد توموری، ضد درد و سایر خواص درمانی آن ها گاهی اوقات به دلیل مقاومت دارویی و عوارض جانبی کمتر و قابل تحمل تر بودن در طولانی مدت، در کنترل بیماری ها موفق تر از داروهای شیمیایی است و در مطالعه حاضر باعث کاهش مضرات نورو توکسیک آلکریل آمید بود (۱۱).

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد، آلکریل آمید با تولید رادیکال های آزاد اکسیژن و استرس اکسیداتیو باعث نوعی عدم تعادل بین رادیکال های آزاد و آنتیاکسیدان ها شده که در نهایت موجب آسیب به بافت می شود. سطح MDA در گروه آلکریل آمید نسبت به سایر گروه ها افزایش داشته و در گروه عصاره کندر نسبت به سایر گروه ها با کمترین غلظت گزارش شده است. میزان آن در گروه آلکریل آمید و کندر در مقایسه با گروه آلکریل آمید کاهش معنی داری داشته است. همچنین میزان TAC در گروه کنترل بیشترین مقدار را ثبت کرده در صورتی که در گروه کندر کمترین میزان آن گزارش شده است. به علاوه این که عصاره کندر به علت دارا بودن ویژگی آنتی اکسیدانی و ضد التهابی و به واسطه مهار رادیکال های آزاد سمیت ایجاد شده توسط آلکریل آمید در بافت مغز را کاهش می دهد.

مرگ سلولی و تکثیر سلولی نقش دارند. در مطالعه ای اثر تجویز تک و مکرر آلکریل آمید بر محتوای GSH و فعالیت GST در مغز موش را بررسی کردند، که تجویز مکرر آلکریل آمید (۵۰ میلی گرم / کیلوگرم × ۱۰ روز) محتوای GSH و همچنین فعالیت GST را در مغز موش کاهش داد. چنان که در مطالعه حاضر آلکریل آمید افزایش قابل توجه غلظت مالون دی آل دهید در بافت مغز موش را منجر شد. GSH توسط GST در بسیاری از واکنش های سلولی استفاده می شود. بنابراین، فعالیت های آنزیمی GST به در دسترس بودن GSH بستگی دارد. تغییر فعالیت GST ممکن است بر وضعیت واکنش های اکسایش-کاهش سلول تأثیر بگذارد. این ممکن است متعاقباً بر بیان ژن وابسته به واکنش های اکسایش-کاهش مختلف تبدیل یا تکثیر سلولی یا حتی در رخداد آپوپتوز تأثیر بگذارد (۶). اهمیت مخچه در کنترل فعالیت های حرکتی مختلف در بدن به خوبی شناخته شده است و مغز در حال رشد مستعد اثرات مضر ROS است. گزارش شده است که آنتی اکسیدان ها از آسیب اکسیداتیو در رشد مخچه جلوگیری می کنند و نقش مهمی در سلامت عمومی و همچنین حفظ سلامتی دارند (۱۸). در نتیجه می توان گفت نتایج بافت شناسی نشان داده شده در مطالعه حاضر می تواند حاصل از استرس اکسیداتیو و آسیب نورونی بوده باشد.

عصاره کندر باعث افزایش تعداد نورون های پیرامیدال، ضخامت لایه مولکولار و گرانولار در ناحیه CA1 وضخامت لایه گرانولار در ناحیه شکنج دندانه دار در بافت هیپوکامپ شد. همسو با این نتایج گزارش شده است که استفاده از کندر می تواند باعث افزایش سطح بیان پروتئین های سیناپسی بهبود یادگیری و تقویت حافظه در حیوانات و انسان شود (۱۷، ۱۲). هم چنین در مطالعه حاضر عصاره کندر باعث کاهش معنی دار غلظت مالون دی آل دهید بافت مغز در موش ها شد. اسیدهای بوسولیک جزء فعال اصلی کندر و مسئول اثرات درمانی آن هستند.

منابع

1. Park HR, Kim M-S, Kim SJ, Park M, Kong KH, Kim HS, et al. Acrylamide induces cell death in neural progenitor cells and impairs hippocampal neurogenesis. *Toxicology letters*. 2010;193(1):86-93.
2. Dortaj H, Yadegari M, Hosseini Sharif Abad M, Abbasi Sarcheshmeh A, Anvari M. Effects of Acrylamide and Vitamin C on Histological Changes and Stereological Parameters of Cerebellum in Rat Offsprings. *The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam*. 2014;2(3):9-18.
3. LoPachin RM. The changing view of acrylamide neurotoxicity. *Neurotoxicology*. 2004;25(4):617-30.
4. LoPachin RM, Barber DS, He D, Das S. Acrylamide inhibits dopamine uptake in rat striatal synaptic vesicles. *Toxicological Sciences*. 2006;89(1):224-34.
5. Moradi HR, Taherianfard M, Rashidi M, Javid Z, Hesami SA. Protective Effects of Wheat Sprout on Acrylamide Toxicity in the Hippocampus Structure and Spatial Learning and Memory of Rat. *The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam*. 2023;11(2):10-9.
6. Kumar J, Das S, Teoh SL. Dietary acrylamide and the risks of developing cancer: Facts to ponder. *Frontiers in nutrition*. 2018;5:323710.
7. Kopańska M, Łągowska A, Kuduk B, Banaś-Ząbczyk A. Acrylamide neurotoxicity as a possible factor responsible for inflammation in

²⁰ Anti-arthritis²¹ Anti-amyloidogenic²² Anti-apoptotic

the cholinergic nervous system. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(4):2030.

8. Al-Harrasi A, Hussain H, Csuk R, Khan HY. Chemistry and bioactivity of boswellic acids and other terpenoids of the genus *boswellia*: Elsevier; 2018.

9. Hosseini M, Hadjzadeh MA-R, 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. *Archives of pharmacal research*. 2010;33:463-8.

10. Efferth T, Oesch F, editors. Anti-inflammatory and anti-cancer activities of frankincense: Targets, treatments and toxicities. *Seminars in cancer biology*; 2022.

11. Khajehdehi M, Khalaj-Kondori M, Baradaran B. Molecular evidences on anti-inflammatory, anticancer, and memory-boosting effects of frankincense. *Phytotherapy Research*. 2022;36(3):1194-215.

12. Beheshti S, Tohidloo S, Esmaeili A. Frankincense improves memory retrieval and down-regulates the hippocampal synaptophysin mRNA during the development of the rat brain. *Physiology and Pharmacology*. 2020;24(1):46-53.

13. Hamidpour R, Hamidpour S, Hamidpour M, Hamidpour RF. The novel phytotherapy for drug targeting in cancer. *Arch Cancer Res*. 2016;4(1):1-5.

14. Mohammadzadeh M, Mazaheri F, Anbari F, Khalili MA. The impacts of estrogen and sesame oil on the hippocampal histomorphologic changes in mice. *Shefaye Khatam*. 2020;8:29-38.

15. Sadoughi D, Edalatmanesh MA, Rahbarian R.

Investigating the effect of *Avicennia Marina* aqueous extract on neuronal density of hippocampal CA1, CA2, CA3 and dentate gyrus in diabetic rats. *The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam*. 2017;5(2):28-35.

16. Faghieh Neireesy M. A Review of the Therapeutic Effects of Natural Antioxidant Compounds on the Improvement of Autism Spectrum Disorder. *The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam*. 2023;11(3):81-94.

17. Safwat G, Mohamed AA, Mohamed HR. Estimation of genotoxicity, apoptosis and oxidative stress induction by TiO₂ nanoparticles and acrylamide subacute oral coadministration in mice. *Scientific Reports*. 2022;12(1):18648.

18. Imosemi IO. The role of antioxidants in cerebellar development. A review of literature. *International Journal of Morphology*. 2013;31(1):203-10.

19. Noroozi S, Khadem Haghighian H, Abbasi M, Javadi M, Goodarzi S. A review of the therapeutic effects of frankincense. *Journal of Inflammatory Diseases*. 2018;22(1):70-81.

20. Rajabian A, Sadeghnia H, Fanoudi S, Hosseini A. Genus *Boswellia* as a new candidate for neurodegenerative disorders. *Iranian journal of basic medical sciences*. 2020;23(3):277.

21. Shahidpour F, Mehrjerdi FZ, Mozayan MR, Marefati N, Hosseini M. The effects of frankincense extract on depression and anxiety-like behaviors induced by lipopolysaccharide in rats. *Learning and Motivation*. 2021;73:101708.