Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 10:47 +0430 on Friday April 16th 2021

Semnan University of Medical Sciences

KOOMESH

Journal of Semnan University of Medical Sciences

Volume 21, Issue 3 (Summer 2019), 395- 578

ISSN: 1608-7046

Full text of all articles indexed in:
Scopus, Index Copernicus, SID, CABI (UK), EMRO, Iranmedex, Magiran, ISC, Embase

Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 10:47 +0430 on Friday April 16th 2021

میکروجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس از اختلال حافظه ناشی از اسکوپولامین در موش‌های صحرایی ماده جوان جلوگیری می‌کند

عباسعلی وفایی [۲،۱](Ph.D)، معصومه دادخواه [۵،۳](Ph.D)، نصرالله مرادی کُر [۱](Ph.D Student)، مریم نظری [۴](Ph.D Student)، فاطمه سادات نقیبی‌نسب [۵](M.D Student)، مهسا عطارمقدم [۵](M.D Student)، احمدرضا بندگی [۶](Ph.D)، علی رشیدی‌پور [۲،۱](Ph.D)، علی قنبری [*۱](Ph.D)

۱- مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

۲ -گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

۳-دفتر توسعه و هماهنگی مراکز تحقیقاتی، معاونت تحقیقات و فناوری، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

۴-مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی و گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۵-کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

۶-گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۷۳۱۳۹۷۰ ghanbri@semums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۵/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱/۲۱

چکیده

هدف: اختلال حافظه یکی از مشکلات بالینی در بیماری آلزایمر است که به طور پیش‌رونده ای به زوال حافظه و اختلالات شناختی منجر می‌گردد. در این مطالعه به ارزیابی اثر میکروجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس بر اختلال حافظه ناشی از اسکوپولامین پرداخته شد.

مواد و روش‌ها: موش‌های صحرایی ماده یک ماهه به‌طور تصادفی به ۹ گروه (سالین+سالین، سالین+اسکوپولامین ۱ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، سالین+اسکوپولامین ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، اسپیرولینا ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن+اسکوپولامین ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، اسپیرولینا ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن+اسکوپولامین ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، اسپیرولینا ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن+اسکوپولامین ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، اسپیرولینا ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن+سالین، اسپیرولینا ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن+سالین، اسپیرولینا ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن+سالین) تقسیم شدند. آزمایش رفتاری حافظه مهاری اجتنابی (با جریان ۰/۵ میلی‌آمپر، مدت ۳ ثانیه و شوک ۳ ثانیه) به این ترتیب انجام شد که بلافاصله پس از آموزش دادن حیوان، تزریق داخل صفاقی اسکوپولامین و ۲۴ ساعت بعد تعیین تثبیت حافظه انجام شد. قبل از آموزش، میکروجلبک اسپیرولینا با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۱۴ روز گاواژ شد. آزمایشات بیوشیمیایی شامل تعیین میزان مالون دی‌آلدئید و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی سرم بود که به ترتیب به روش تیوباربیتوریک اسید و FRAP (Ferric reducing ability of plasma) انجام شد.

یافته‌ها: اسکوپولامین به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۰۱$) موجب اختلال حافظه گردید و اسپیرولینا به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) از اختلال حافظه ناشی از اسکوپولامین جلوگیری کرد. هم‌چنین میکروجلبک اسپیرولینا موجب تقویت معنی‌دار ($P<۰/۰۱$) ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی سرم گردید.

نتیجه‌گیری: میکروجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس احتمالاً از طریق افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام سرم موجب بهبود اختلال حافظه ناشی از اسکوپولامین می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: یادگیری اجتنابی، حافظه، اسکوپولامین، اسپیرولینا، استرس اکسیداتیو، اختلالات حافظه

مقدمه

حافظه یکی از مهم‌ترین و پیچیده‌ترین روندهای رفتاری است که افزایش اطلاعات بیولوژیکی در این

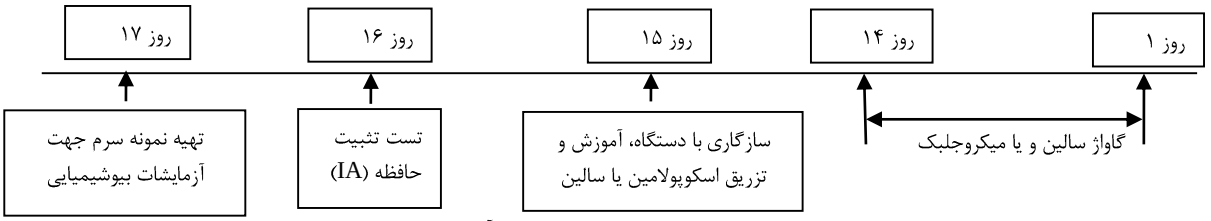
Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 10:47 +0430 on Friday April 16th 2021

خصوص ما را در به تاخیر انداختن از دست دادنش کمک می‌کند. اختلال حافظه یکی از مشکلاتی است که در بیماری‌های مختلف رخ می‌دهد و بیماری آلزایمر مشخص‌ترین بیماری در این خصوص می‌باشد [۱]. از نظر پاتولوژی عصبی، اختلال در عملکرد سیستم کولینرژیکی مغز مکانیسم اصلی ایجاد ضعف حافظه بوده و بیش‌تر روش‌های درمانی بر اصلاح این سیستم متمرکزند [۲،۳]. مکانیسم‌های متعدد دیگری نیز در ایجاد آلزایمر مطرح هستند که از آن جمله می‌توان به استرس اکسیداتیو، روندهای التهابی، تجمع پلاک‌های بتا-آمیلوئید در مغز اشاره نمود [۴-۶]. طبق آمار سازمان بهداشت جهانی مرگ ومیر ناشی از بیماری ایدز، سکته مغزی و بیماری‌های قلبی بین سال‌های ۲۰۰۰ تا ۲۰۰۸ به ترتیب ۲۹، ۲۰ و ۱۳ درصد کاهش داشته در حالی‌که در همین مدت میزان مرگ و میر ناشی از بیماری آلزایمر ۶۶ درصد افزایش داشته است [۷]. این آمار اهمیت بررسی روش‌های مختلف در درمان یا پیشگیری این بیماری را بیش از پیش گوشزد می‌کند. تا کنون هیچ درمان شناخته شده‌ای برای این بیماری معرفی نشده است [۸]. مدل‌های حیوانی کمک شایانی به افزایش اطلاعات از مکانیزم بیماری‌ها و روش‌های درمانی می‌کنند. استفاده از اسکوپولامین به عنوان آنتاگونیست کولینرژیک با جلوگیری از عمل استیل کولین در سطح گیرنده‌های مغزی موجب تضعیف حافظه می‌گردد و از این رو مدلی مناسب برای مطالعه اختلالات حافظه می‌باشد [۹،۱۰]. استیل‌کولین یکی از مهم‌ترین نوروترانسمیترهای مغزی است که در حافظه نقش بسیار مهمی دارد [۱۱]. در حال حاضر مواجهه درمانی با این بیماری منوط به کاهش علایم و یا پیشرفت آن است که معمولاً از طریق افزایش طول دوره بقاء نوروترانسمیتر استیل‌کولین در مغز است [۱۲،۱۳]. از روش‌هایی که در به تعویق انداختن علایم بیماری پیشنهاد شده است می‌توان به تحریک ذهن، ورزش و رژیم غذایی متعادل نام برد [۱۴-۱۶]. یکی از روش‌هایی که در جلوگیری و یا به تأخیر انداختن تضعیف حافظه به‌نظر مؤثر است استفاده از مواد غذایی غنی شده است [۱۳].

انسان‌ها از دیر باز گیاهان را به عنوان غذا و دارو مورد استفاده قرار می‌دادند. در این بین میکروجلبک‌ها به‌خاطر غنی بودن از پروتئین و ویتامین و مواد معدنی به‌طور خاصی مورد توجه بوده‌اند [۱۷]. اسپیرولینا یک میکروجلبک سبز-آبی (سیانوباکتریا) از انواع میکروجلبک‌هایی است که از دوران باستان به‌عنوان غذا و کمک درمان در بیماری‌هایی چون سرطان، آلرژی‌ها، بعضی از بیماری‌های التهابی، بیماری‌های قلبی و دیابت استفاده می‌شده [۱۸-۲۰]. معتقدند بسیاری از اثرات مفید مشاهده شده توسط اسپیرولینا مربوط به خواص آنتی‌اکسیدانی آن است [۲۰]. چنان‌که در مطالعات حیوانی نشان داده شده است که استرس اکسیداتیو ناشی از مواد سمی محیطی، داروها و مواد شیمیایی توسط اسپیرولینا تضعیف می‌گردد [۱۸]. از طرفی نشان داده‌اند که اسپیرولینا دارای اثرات ضد التهابی است طوری‌که قادر است میزان ادم ناشی از تزریق پروستاگلاندین به کف پای رت‌ها را به‌طور معنی‌داری کاهش دهد [۲۱]. اسپیرولینا اثرات سودمندی در مدل‌های حیوانی بیماری‌های نورودژنراتیو نشان داده است چنان‌که گزارش شده که اسپیرولینا رت‌ها را در برابر انواع صدماتی چون ضایعه حاد التهابی پلی‌ساکاریدی در هیپوکمپ [۲۲]، ضایعه سیستم دوپامینی نیگرواستریاتال [۲۳] و ضایعه ایسکمی-ریپرفیوژن مغزی [۲۴] محافظت می‌کند. مرور مطالعات گذشته نشان می‌دهد که اطلاعات مختصری از اثر اسپیرولینا بر روی حافظه وجود دارد. بنابراین هدف از مطالعه حاضر ارزیابی اثرات پیش‌درمانی اسپیرولینای خوراکی بر تثبیت حافظه تضعیف شده ناشی از اسکوپولامین می‌باشد.

مواد و روش‌ها

حیوان. در این مطالعه از ۶۵ سر موش صحرایی ماده جوان نژاد ویستار با وزن ۷۰-۶۰ گرم ۳۰ روزه استفاده شد. حیوانات در اتاقی با درجه حرارت کنترل شده (۲۲±۲°C) و دوره روشنایی، تاریکی ۲۴ ساعته، به تعداد ۶-۵ سر در هر قفس که دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند نگهداری می‌شدند. برای آزمایشات رفتاری ۶-۸ سر در هر گروه و در آزمایشات بیوشیمیایی ۴-۳ سر حیوان در هر گروه استفاده شد. تمام آزمایشات بین ساعت ۲ تا ۵ عصر انجام شد. تمام آزمایشات بر اساس پروتکل کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی سمنان و کد اخلاق IR.SEMUMS.REC.1394.144 انجام شد.



شکل ۱. سیر زمانی انجام آزمایشات

داروها. پودر میکروجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس از شرکت زیست پالایشگاه قشم ایران و داروی اسکوپولامین از شرکت سیگما تهیه شد. اسکوپولامین در سالین فیزیولوژیک حل شد و با دوزهای ۱ و ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر به‌صورت داخل صفاقی تزریق گردید. پودر میکروجلبک نیز پس از مخلوط شدن با سالین فیزیولوژیک به میزان ۲ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن گاواژ و آزمایشات طبق خط زمانی شکل ۱ انجام شد.

گروه‌های آزمایشی شامل:

۱) گروهی که گاواژ سالین فیزیولوژیک (به مدت ۱۴ روز) و تزریق داخل صفاقی سالین فیزیولوژیک (تک دوز در روز ۱۵) دریافت کرد.

۲) گروهی که گاواژ سالین فیزیولوژیک (به مدت ۱۴ روز) و تزریق داخل صفاقی اسکوپولامین با دوز ۱ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (تک دوز در روز ۱۵) دریافت کرد.

۳) گروهی که گاواژ سالین فیزیولوژیک (به مدت ۱۴ روز) و تزریق داخل صفاقی اسکوپولامین با دوز ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (تک دوز در روز ۱۵) دریافت کرد.

۴) گروهی که گاواژ میکروجلبک اسپیرولینا با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (به‌مدت ۱۴ روز) و تزریق داخل صفاقی اسکوپولامین با دوز ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (تک دوز در روز ۱۵) دریافت کرد.

۵) گروهی که گاواژ میکروجلبک اسپیرولینا با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (به‌مدت ۱۴ روز) و تزریق داخل صفاقی اسکوپولامین با دوز ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (تک دوز در روز ۱۵) دریافت کرد.

۶) گروهی که گاواژ میکروجلبک اسپیرولینا با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (به‌مدت ۱۴ روز) و تزریق داخل صفاقی اسکوپولامین با دوز ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (تک دوز در روز ۱۵) دریافت کرد.

۷) گروهی که گاواژ میکروجلبک اسپیرولینا با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (به‌مدت ۱۴ روز) و تزریق داخل صفاقی سالین فیزیولوژیک (در روز ۱۵) دریافت کرد.

۸) گروهی که گاواژ میکروجلبک اسپیرولینا با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (به‌مدت ۱۴ روز) و تزریق داخل صفاقی سالین فیزیولوژیک (در روز ۱۵) دریافت کرد.

۹) گروهی که گاواژ میکروجلبک اسپیرولینا با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن (به‌مدت ۱۴ روز) و تزریق داخل صفاقی سالین فیزیولوژیک (در روز ۱۵) دریافت کرد.

آزمایش رفتاری حافظه مهاری اجتنابی. دستگاه مورد استفاده در این آزمایش شامل یک جعبه دو قسمتی تاریک و روشن بود که با یک درب گیوتینی از هم جدا می‌شد. طول و عرض و ارتفاع هر قسمت به ترتیب ۲۲، ۲۱ و ۲۳ سانتی‌متر بود. کف قسمت تاریک از میله‌های استیل به قطر ۱ میلی‌متر که به فاصله ۱ سانتی‌متر از یک‌دیگر قرار گرفته بودند تشکیل شده بود که قادر بود جریان الکتریکی را به کف پای حیوان انتقال دهد. تمام حیوان‌ها در ابتدا با دستگاه آشنا شده و عادت داده می‌شدند به این ترتیب که حیوان در قسمت روشن قرار داده شده و پس از ۵ ثانیه درب گیوتینی باز شده و پس از ورود حیوان به بخش تاریک درب بسته می‌شد و پس از گذشت ۱۰ ثانیه حیوان از قسمت تاریک خارج و به قفسش برگردانده می‌شد. نیم ساعت بعد این روند عادت دادن مجدداً تکرار می‌گردید. ۳۰ دقیقه بعد از روند عادت دادن، آموزش کسب یادگیری انجام می‌شد به این ترتیب که بعد از ورود حیوان به بخش تاریک و بسته شدن درب گیوتینی یک شوک با فرکانس ۵۰ هرتز با جریان ۰،۵ میلی‌آمپر به مدت ۳ ثانیه به کف پای حیوان اعمال می‌گردید. بلافاصله پس از اعمال شوک، سالین فیزیولوژیک و یا اسکوپولامین داخل صفاقی تزریق شده

Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 10:47 +0430 on Friday April 16th 2021

Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 10:47 +0430 on Friday April 16th 2021

و حیوان به قفسش باز گردانده می‌شد. ۲۴ ساعت بعد از آموزش، حیوان در قسمت روشن قرار داده شده و پس از ۵ ثانیه درب گیوتینی باز می‌گردید و زمان تأخیر ورود حیوان به قسمت تاریک دستگاه ثبت می‌شد. این زمان به عنوان میزان تثبیت حافظه در نظر گرفته می‌شد. زمان ۱۰ دقیقه به عنوان Cut off time (نقطه پایان) تست در نظر گرفته می‌شد [۲۵،۲۶].

آزمایشات بیوشیمیایی. تهیه نمونه سرم. بعد از انجام آزمایشات رفتاری، جهت انجام آزمایشات بیوشیمیایی حیوان را با استفاده از مخلوط داروی بی‌هوشی کتامین (۸۰mg/kg) و زایلازین (۱۰ mg/kg) بی‌هوش کرده و با استفاده از یک سورنگ از قلب حیوان خون گرفته و با استفاده از سانتریفوژ با دور ۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سرم خون جدا شده و تا زمان اندازه‌گیری Malondialdehyde (MDA) و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC) سرم در دمای ۸۰- نگهداری شد.

روش تعیین MDA . مالون دی آلدئید سرم به عنوان یکی از مارکرهای استرس اکسیداتیو به روش تیوباربیتوریک اسید اندازه‌گیری شد. مالون دی آلدئید در محیط اسیدی و درجه حرارت بالا با تیوباربیتوریک اسید واکنش داده که جذب نوری محصول واکنش با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۵ نانومتر ارزیابی می‌گردد [۲۷].

روش تعیین ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی. برای تعیین ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی سرم از روش Ferric reducing ability of plasma (FRAP) استفاده گردید. این روش بر اساس توانایی سرم برای تبدیل Fe+3 به Fe+2 استوار بوده و خروجی واکنش یک کمپلکس آبی‌رنگ با حداکثر جذب نور در طول موج ۵۹۳ نانومتر است [۲۸].

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها. برای آزمودن آماری داده‌ها از روش آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده گردید. تمام داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار متغییر مورد نظر بیان شده و P<۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌دار اختلاف داده‌ها در نظر گرفته شد.

نتایج

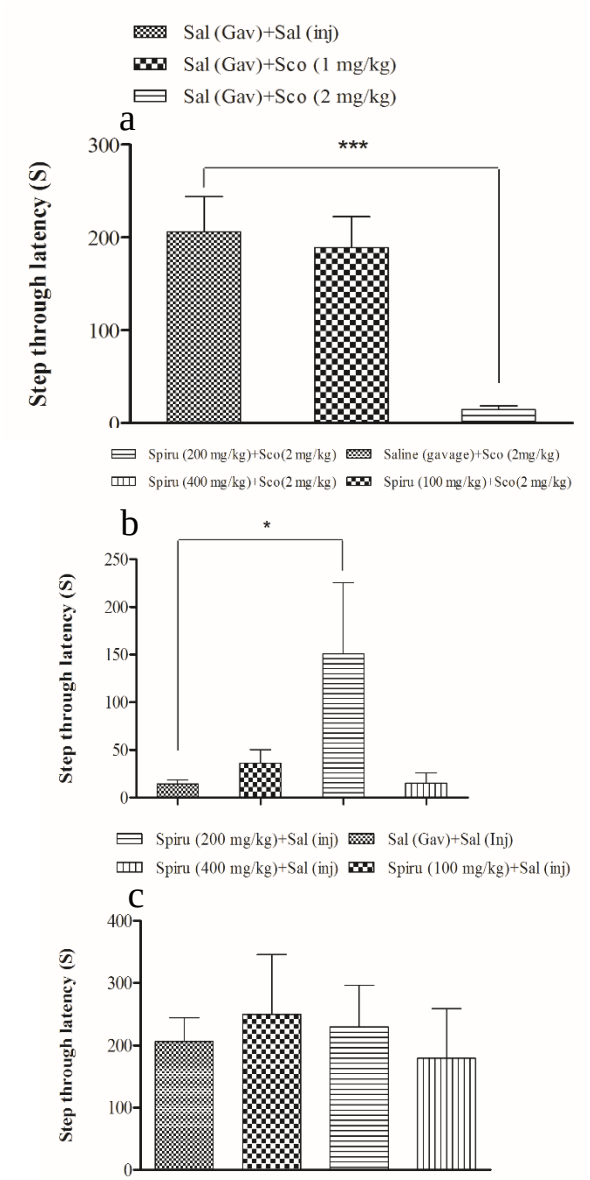
آزمایش رفتاری. نتیجه آزمایش حافظه مهاری اجتنابی نشان داد که میزان تأخیر در ورود به قسمت تاریک دستگاه شاتل در گروه دریافت‌کننده اسکوپولامین تزریقی داخل صفاقی با دوز ۱ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نداشت اما گروه دریافت‌کننده اسکوپولامین با دوز ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۰۱)، F[(۲۰،۳)=۱۶] با گروه کنترل تفاوت داشت (شکل a-۲). نتایج ما در خصوص اثر میکروجلبک اسپیرولینا بر تضعیف حافظه ناشی از اسکوپولامین نشان داد که استفاده از اسپیرولینای خوراکی (گاواژ) به مدت دو هفته قبل از اسکوپولامین قادر است زمان تأخیر ورود حیوان به قسمت تاریک دستگاه را به‌طور معنی‌داری افزایش دهد [(P<۰/۰۵)، F[(۲۸،۴)=۴/۵۸] و این اثر در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دیده شد (شکل b-۲). هم‌چنین نتایج این آزمایش نشان داد که استفاده از میکروجلبک اسپیرولینای خوراکی با دوزهای استفاده شده در این مطالعه (۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) اثری بر حافظه مهاری اجتنابی گروه کنترل سالم که سالین فیزیولوژیک خوراکی دریافت کرد ندارد (شکل c-۲).

آزمایشات بیوشیمیایی. آزمایشات بیوشیمیای شامل بررسی وضعیت استرس اکسیداتیو بود که میزان مالون دی آلدئید و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی سرم مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج زیر حاصل شد.

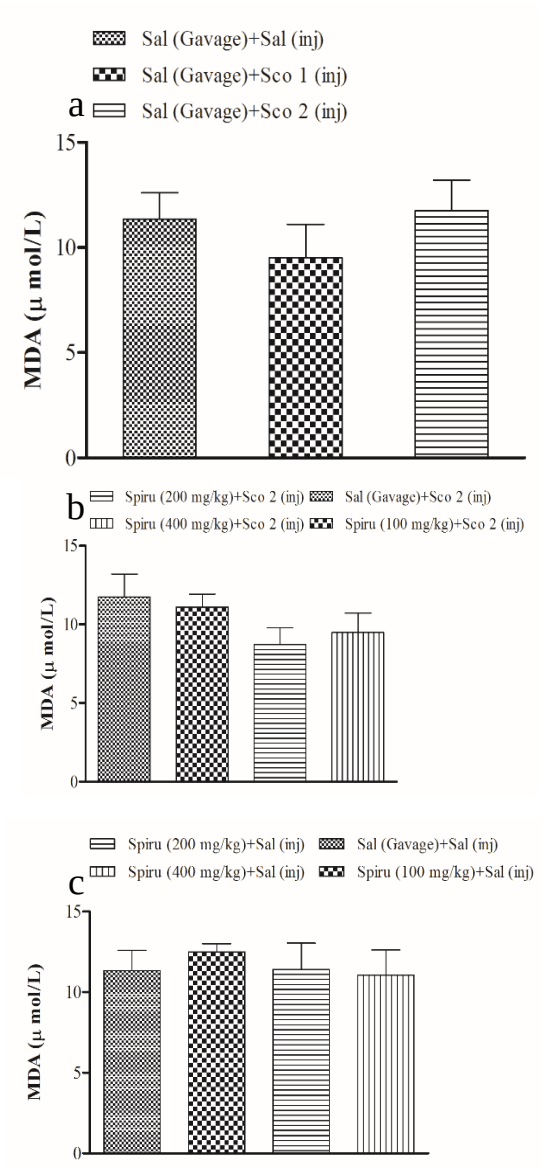
میزان مالون دی آلدئید سرم. نتایج ما در خصوص میزان مالون دی آلدئید سرم نشان داد که استفاده از اسکوپولامین اثر معنی‌داری بر سطح این فاکتور استرس اکسیداتیو ندارد اگرچه آن را مقداری افزایش داد (شکل a–۳). هم‌چنین استفاده از اسپیرولینای خوراکی به مدت دو هفته قبل از استفاده از اسکوپولامین (شکل b–۳) و یا سالین فیزیولوژیک (شکل c–۳) تأثیر معنی‌داری بر میزان مالون دی آلدئید سرم نداشت.

میزان ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی سرم. ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی سرم با روش FRAP تعیین شد. استفاده از اسکوپولامین، میزان FRAP را نسبت به گروه کنترل مقداری کاهش داد ولی این کاهش تفاوت معنی‌داری نداد با گروه کنترل نداشت (شکل a–۴). طبق نتایج ما استفاده از میکروجلبک اسپیرولینا با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موجب افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۱)، F[(۱۶،۴)=۱۱/۸] میزان FRAP نسبت به گروه کنترل شد (شکل b–۴). استفاده از این میکروجلبک تأثیری بر سطح FRAP نسبت به گروه سالم (دریافت‌کننده سالین فیزیولوژیک خوراکی) نداشت (شکل c–۴).

Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 10:47 +0430 on Friday April 16th 2021

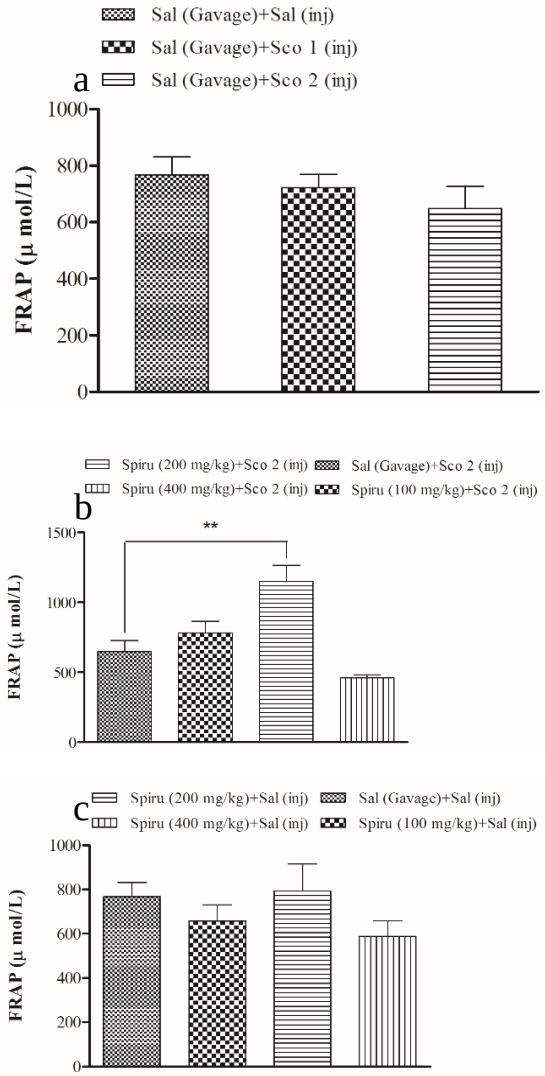


شکل ۲. ارزابی اثرات درمان بر تثبیت حافظه موشهای صحرایی ماده جوان بوسیله آزمایش حافظه مهاری اجتنابی. (a-۲) اسکوپولامین با دوز ۲mg/kg بطور معنی داری موجب کاهش تأخیر در ورود به بخش تاریک نسبت به گروه کنترل گردید. گروه کنترل، سالین فیزیولوژیک به جای اسکوپولامین دریافت کرد. اطلاعات بصورت میانگین ± انحراف معیار مقدار اندازه گیری شده با n=۶-۸ در هر گروه بیان شد. (b-۲) میکروجلبک اسپیرولینا با دوز ۲۰۰mg/kgبطور معنی داری موجب مهار اثر تضعیفی اسکوپولامین بر حافظه مهاری اجتنابی گردید. گروه کنترل، سالین فیزیولوژیک به جای میکروجلبک اسپیرولینا دریافت کرد. اطلاعات بصورت میانگین ± انحراف معیار مقدار اندازه گیری شده با n=۶-۸ در هر گروه بیان شد. (c-۲) میکروجلبک اسپیرولینا با هیچ یک از دوزهای مورد آزمایش اثر معنی داری بر حافظه مهاری اجتنابی در موشهای سالم نداشت. گروه کنترل، سالین فیزیولوژیک به جای میکروجلبک اسپیرولینا دریافت کرد. اطلاعات بصورت میانگین ± انحراف معیار مقدار اندازه گیری شده با n=۶-۸ در هر گروه بیان شد.
*P<0.05 ،***P<0.001



شکل ۳. ارزیابی اثرات درمان بر میزان مالون دی آلدئید سرم موشهای صحرایی ماده جوان. (a-۳) اسکوپولامین تغییر معنی داری در میزان مالون دی آلدئید سرم نسبت به گروه کنترل ایجاد نکرد. گروه کنترل سالین فیزیولوژیک داخل صفاقی به جای اسکوپولامین دریافت کرد. اطلاعات بصورت میانگین ± انحراف معیار مقدار اندازه گیری شده با n=۴ در هر گروه بیان شد. (b-۳) میکروجلبک اسپیرولینا تفاوت معنی داری در میزان مالون دی آلدئید سرم درموشهای صحرایی ماده جوان دریافت کننده اسکوپولامین نسبت به گروه کنترل ایجاد نکرد. گروه کنترل، سالین فیزیولوژیک به جای میکروجلبک اسپیرولینا دریافت کرد. اطلاعات بصورت میانگین ± انحراف معیار مقدار اندازه گیری شده با n=۴ در هر گروه بیان شد. (c-۳) میکروجلبک اسپیرولینا تفاوت معنی داری در میزان مالون دی آلدئید سرم درموشهای صحرایی ماده جوان سالم (دریافت کننده سالین فیزیولوژیک) نسبت به گروه کنترل ایجاد نکرد. گروه کنترل به جای میکروجلبک اسپیرولینا، سالین فیزیولوژیک بصورت گاواژ دریافت کرد. اطلاعات بصورت میانگین ± انحراف معیار مقدار اندازه گیری شده با n=۴-۶ در هر گروه بیان شد.

Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 10:47 +0430 on Friday April 16th 2021



شکل ۴. ارزیابی اثرات درمان بر میزانFRAP سرم موشهای صحرایی ماده جوان. (a-۴) اثراسکوپولامین تزریقی ، تغییر معنی داری در میزان FRAP نسبت به گروه کنترل ایجاد نکرد. گروه کنترل سالین فیزیولوژیک داخل صفاقی به جای اسکوپولامین دریافت کرد. اطلاعات بصورت میانگین ± انحراف معیار مقدار اندازه گیری شده با n=۴ در هر گروه بیان شد. (b-۴) میکروجلبک اسپیرولینا با دوز ۲۰۰mg/kg موجب افزایش معنی دار میزان FRAP سرم موشهای صحرایی ماده جوان دریافت کننده اسکوپولامین نسبت به گروه کنترل گردید. گروه کنترل، سالین فیزیولوژیک به جای میکروجلبک اسپیرولینا دریافت کرد. اطلاعات بصورت میانگین ± انحراف معیار مقدار اندازه گیری شده با n=۴-۵ در هر گروه بیان شد. (c-۴) میکروجلبک اسپیرولینا با هیچ کدام از دوزهای مورد آزمایش موجب تغییر معنی داری در میزان FRAP سرم درموشهای صحرایی ماده جوان سالم نسبت به گروه کنترل که سالین فیزیولوژیک خوراکی به جای میکروجلبک اسپیرولینا دریافت کرده بود نشد. اطلاعات بصورت میانگین ± انحراف معیار مقدار اندازه گیری شده با n=۴-۶ در هر گروه بیان شد. **P<0.01

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه اثر پیش‌درمانی میکروجلبک اسپیرولینا پلاتنسیس خوراکی بر تضعیف حافظه ناشی از اسکوپولامین مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج ما نشان داد که اسکوپولامین با دوز ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موجب تضعیف حافظه مهاری اجتنابی می‌شود. این نتیجه هم‌خوان با نتایج مطالعات متعددی است که از اسکوپولامین به عنوان عاملی برای مهار موقتی سیستم کولینرژیکی مغز و ایجاد ضعف حافظه و یادگیری گذرا استفاده کرده‌اند [۲۹-۳۱]. نتایج ما نشان داد که استفاده مزمن خوراکی میکروجلبک اسپیرولینا قادر به بهبود زوال حافظه است. طبق نتایج ما استفاده از میکروجلبک اسپیرولینا به‌صورت داخل معدی (گاواژ) با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن قادر است حافظه تضعیف شده ناشی از اسکوپولامین را به‌طور معنی‌داری بهبود بخشد. این نتیجه ما هم‌خوان با نتایج koh و همکاران است که در سال ۲۰۱۷ نشان دادند مصرف خوراکی عصاره الکلی اسپیرولینا ماکزیما با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۲ هفته موجب بهبود حافظه مهاری اجتنابی تضعیف شده ناشی از اسکوپولامین در موش سوری می‌گردد [۳۲]. هم‌چنین نتایج ما هم‌خوان با نتایج همین محققین است که گزارش کردند مصرف خوراکی عصاره الکلی اسپیرولینا ماکزیما به مدت دو هفته موجب بهبود حافظه اجتنابی مهاری تضعیف شده ناشی از تزریق مرکزی بتا-آمیلوئید در موش سوری می‌گردد [۳۳].

یافته‌های ما در خصوص میزان MDA سرمی متعاقب استفاده از اسکوپولامین، تغییری در میزان این عامل اکسیداتیو نسبت به گروه کنترل نشان نداد. این یافته ما بر خلاف نتیجه مطالعه رحیم‌زادگان و همکاران است که در سال ۲۰۱۸ گزارش شد [۳۴]. آن‌ها در آزمایشاتشان نشان دادند که نیم ساعت پس از تزریق اسکوپولامین با دوز ۳ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن میزان MDA افزایش معنی‌داری می‌یابد. چند دلیل برای این ناهم‌خوانی می‌توان ذکر کرد: اول این‌که آن‌ها در فاصله کوتاهی پس از تزریق اسکوپولامین میزان MDA را اندازه‌گیری کردند و در حالی‌که ما بعد از ۲۴ ساعت اندازه‌گیری را انجام دادیم، دوم این‌که آن‌ها در بافت هیپوکمپ که مستقیم با حافظه تضعیف شده مرتبط است سنجش را انجام دادند در حالی‌که ما در سرم انجام دادیم و احتمال دارد در این فاصله زمانی مورد تخریب و دفع از بدن قرار گرفته باشد و دلیل سوم هم این‌که دوز اسکوپولامین آن‌ها یک و نیم برابر دوز استفاده شده توسط ما بوده است. در خصوص احتمال تفاوت میزان MDA در بافت و سرم، مطالعه‌ای نشان داده که به‌دنبال

Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 10:47 +0430 on Friday April 16th 2021

تزریق LPS به غدد پستانی موش صحرایی میزان MDA سرم به‌طور معنی‌داری کم‌تر از بافت تزریق شده است [۳۵]. بر این اساس چنان‌چه ما میزان MDA را در بافت مغزی مورد سنجش قرار می‌دادیم ممکن بود بتوانیم افزایش آن را نشان دهیم. از طرف دیگر نشان داده شده که در انسان به دنبال ریپرفیوژن متعاقب ایسکمی قلبی میزان MDA بافت قلب افزایش می‌یابد در حالی‌که میزان آن در سرم زمانی قبل تعیین می‌شود که سکته قلبی و ترومبولیز رخ داده باشد [۳۶]. بر این اساس مجدداً تأکید می‌گردد چنان‌چه ما در آزمایشاتمان به جای سرم، بافت مغز را مورد ارزیابی قرار می‌دادیم می‌توانستیم تغییرات میزان MDA ناشی از اسکوپولامین را نشان دهیم. مطالعه دیگری که در سال ۲۰۱۵ انجام شد نشان داد که میزان MDA در پاسخ به عامل اکسیداتیو کادمیوم در سرم و مغز و کبد به ترتیب ۰/۵، ۷ و ۳ برابر میزان کنترل افزایش می‌یابد که بخشی از این اختلاف به دلیل تفاوت در محتوای لیپیدی این قسمت‌ها می‌باشد [۳۷] چنان‌که گزارشات نشان می‌دهد که آسیب‌پذیری بالای مغز در برابر استرس اکسیداتیو مربوط به میزان زیاد مصرف اکسیژن در آن و سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی ناکافی آن [۳۸] و نیز محتوای لیپیدی بالای آن است [۳۹]. این گزارش به وضوح امکان بیش‌تر بودن میزان افزایش MDA را در بافت مغز نسبت به سرم مطرح کرده و مجدداً بیانگر این امکان است که در مطالعه ما نیز چنان‌چه اندازه‌گیری MDA در مغز انجام می‌شد افزایش آن دیده می‌شد. بنابراین در مطالعه ما اگر چه میزان MDA مقداری افزایش نشان داده ولی سطح سرمی MDA در حدی نبوده که ۲۴ ساعت پس از تزریق اسکوپولامین تفاوت معنی‌داری را با کنترل نشان دهد و چه بسا اگر در مدت کوتاه‌تری پس از تزریق اندازه‌گیری می‌شد ممکن بود افزایش آن تأیید گردد. از طرف دیگر با توجه به این‌که ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی سرم متعاقب استفاده از اسپیرولینا به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است ممکن است همین تقویت‌شدگی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم از افزایش مالون دی آلدئید جلوگیری کرده باشد.

نتایج ما در خصوص سنجش FRAP نشان داد که اسپیرولینا با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن میزان FRAP را به‌طور معنی‌داری نسبت به کنترل افزایش داد. این نتیجه ما هم‌خوان با نتیجه مطالعه قبلی ما در مورد اثر اسپیرولینا در درد نوروپاتیک محیطی است [۴۰] و تنها تفاوت آن این است که دوز اثرگذار در این مطالعه ۲۰۰ و در مطالعه قبلی ۴۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بوده است. علت این تفاوت ممکن است ناشی از این واقعیت باشد که در مطالعه قبل از حیوانات نر بالغ استفاده شده بود ولی در مطالعه حاضر از بچه موش‌های ۳۰ روزه جوان ماده استفاده گردیده است.

Hafez و همکاران در سال ۲۰۱۷ نشان دادند که در شرایط تضعیف حافظه متعاقب استفاده از اسکوپولامین میزان مدیاتورهای آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی (گلوتاتیون) و آنزیمی (گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون ترانسفراز) به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد [۳۰]. ما در این مطالعه میزان واسطه‌گرهای آنتی‌اکسیدانی را اندازه‌گیری نکردیم اما با سنجش میزان FRAP که معیاری از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام سرم است نشان دادیم که اسپیرولینا به موازات این‌که موجب تقویت حافظه تضعیف شده ناشی از اسکوپولامین می‌گردد، به طور معنی‌داری میزان FRAP را افزایش می‌دهد. به این ترتیب این افزایش نشان می‌دهد که واسطه‌گرهای آنتی‌اکسیدانی سرم تحت تأثیر اسپیرولینا تقویت شده‌اند.

طبق نتایج این مطالعه مصرف پیش درمانی خوراکی اسپیرولینا پلاتنسیس قادر به بهبود حافظه تضعیف شده ناشی از اسکوپولامین است و این اثر احتمالاً از طریق تقویت ظرفیت دفاعی آنتی‌اکسیدانی انجام می‌شود.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی سمنان انجام شد و نویسندگان مقاله به این وسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را به عمل می‌آورند.

منابع

[1] Brookmeyer R, Johnson E, Ziegler-Graham K, Arrighi HM. Forecasting the global burden of Alzheimer's disease. Alzheimers Dement 2007; 3: 186-191.

[2] Craig LA, Hong NS, McDonald RJ. Revisiting the cholinergic hypothesis in the development of Alzheimer's disease. Neurosci Biobehav Rev 2011; 35: 1397-1409.

[3] Hasselmo ME. The role of acetylcholine in learning and memory. Curr Opin Neurobiol 2006; 16: 710-715.

[4] Pogocki D. Alzheimer's beta-amyloid peptide as a source of neurotoxic free radicals: the role of structural effects. Acta Neurobiol Exp (Wars) 2003; 63: 131-145.

[5] Karran E, Mercken M, De Strooper B. The amyloid cascade hypothesis for Alzheimer's disease: an appraisal for the development of therapeutics. Nat Rev Drug Discov 2011; 10: 698-712.

[6] Furman JL, Sama DM, Gant JC, Beckett TL, Murphy MP, Bachstetter AD, et al. Targeting astrocytes ameliorates neurologic changes in a mouse model of Alzheimer's disease. J Neurosci 2012; 32: 16129-16140.

[7] World Health Organization. The World Health Report 2008 - primary health care: Now more than ever. http://www.who.int/whr/2008/whr08_en.pdf (accessed September 23, 2010). 2010.

Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 10:47 +0430 on Friday April 16th 2021

[26] Rashidy-Pour A, Vafaei AA, Bavarsad K, Haghighi S. Voluntary exercise and estrogen replacement ameliorate the impairment of fear memory and decrease in the number of neurons in the hippocampus induced by ovariectomy in rats. Koomesh 2017; 655-665. (Persian).

[27] Mihara M, Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. Anal Biochem 1978; 86: 271-278.

[28] Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Anal Biochem 1996; 239: 70-76.

[29] Pattanashetti LA, Taranalli AD, Parvatrao V, Malabade RH, Kumar D. Evaluation of neuroprotective effect of quercetin with donepezil in scopolamine-induced amnesia in rats. Indian J Pharmacol 2017; 49: 60-64.

[30] Hafez HS, Ghareeb DA, Saleh SR, Abady MM, El Demellawy MA, Hussien H, Abdel-Monem N. Neuroprotective effect of ipriflavone against scopolamine-induced memory impairment in rats. Psychopharmacology (Berl) 2017; 234: 3037-3053.

[31] Yanev PG, Dimitrova DS, Getova-Spassova DP. Effects of rivastigmine and memantine alone and in combination on learning and memory in rats with scopolamine-induced amnesia. Open Med (wars) 2015; 10: 338-345.

[32] Koh EJ, Seo YJ, Choi J, Lee HY, Kang DH, Kim KJ, Lee BY. Spirulina maxima extract prevents neurotoxicity via promoting activation of BDNF/CREB signaling pathways in neuronal cells and mice. Molecules 2017; 22.

[33] Koh EJ, Kim KJ, Song JH, Choi J, Lee HY, Kang DH, et al. Spirulina maxima Extract Ameliorates Learning and Memory Impairments via Inhibiting GSK-3beta Phosphorylation Induced by Intracerebroventricular Injection of Amyloid-beta 1-42 in Mice. Int J Mol Sci 2017; 18.

[34] Rahimzadegan M, Soodi M. Comparison of Memory Impairment and Oxidative Stress Following Single or Repeated Doses Administration of Scopolamine in Rat Hippocampus. Basic Clin Neurosci 2018; 9: 5-14.

[35] Eslami H, Batavani RA, Asr IRS, Hobbenaghi R. Changes of stress oxidative enzymes in rat mammary tissue, blood and milk after experimental mastitis induced by E. coli lipopolysaccharide. Vet Res Forum 2015; 6: 131-136.

[36] Lazzarino G, Tavazzi B, Di Pierro D, Vagnozzi R, Penco M, Giardina B. The relevance of malondialdehyde as a biochemical index of lipid peroxidation of postischemic tissues in the rat and human beings. Biol Trace Elem Res 1995; 47: 165-170.

[37] Ogunrinola O. Lipid profile and malondialdehyde concentrations in cadmium-induced rats: a study with relation to doses. MOJ Toxicol 2015; 1: 1-6.

[38] Hong IS, Lee HY, Kim HP. Anti-oxidative effects of Rooibos tea (Aspalathus linearis) on immobilization-induced oxidative stress in rat brain. PLoS ONE 2014; 9: e87061.

[39] Saxena G, Singh SP, Agrawal R, Nath C. Effect of donepezil and tacrine on oxidative stress in intracerebral streptozotocin-induced model of dementia in mice. Eur J Pharmacol 2008; 581: 283-9.

[40] Safakhah HA, Tamimi F, Bandegi AR, Ghanbari A. Hypoalgesic effect of Spirulina platensis on the sciatic neuropathic pain induced by chronic constriction injury in male rats. Biomed Res Ther 2018; 5: 2671-2679. (Persian).

OIZ[8] Lindsley CW. Alzheimer's disease: development of disease-modifying treatments is the challenge for our generation. ACS Chem Neurosci 2012; 3: 804-805.

[9] Blokland A. Acetylcholine: a neurotransmitter for learning and memory? Brain Res Brain Res Rev 1995; 21: 285-300.

[10] Klinkenberg I, Blokland A. A comparison of scopolamine and biperiden as a rodent model for cholinergic cognitive impairment. Psychopharmacology (Berl) 2011; 215: 549-566.

[11] Robinson L, Platt B, Riedel G. Involvement of the cholinergic system in conditioning and perceptual memory. Behav Brain Res 2011; 221: 443-465.

[12] Vacca JP. Approaches toward new Alzheimer's treatments. ACS Med Chem Lett 2012; 3: 861.

[13] Mohajeri MH, Troesch B, Weber P. Inadequate supply of vitamins and DHA in the elderly: implications for brain aging and Alzheimer-type dementia. Nutrition 2015; 31: 261-275.

[14] Aarsland D, Cummings JL, Larsen JP. Neuropsychiatric differences between Parkinson's disease with dementia and Alzheimer's disease. Int J Geriatr Psychiatry 2001; 16: 184-191.

[15] Babic T. The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. J Neurol Neurosurg Psychiatry 1999; 67: 558.

[16] Lawal OA, Oyedeji AO. Chemical composition of the essential oils of Cyperus rotundus L. from South Africa. Molecules 2009; 14: 2909-2917.

[17] Mazo VK, Gmoshinskii IV, Zilova IS. [Microalgae Spirulina in human nutrition]. Vopr Pitan 2004; 73: 45-53.

[18] Deng R, Chow TJ. Hypolipidemic, antioxidant, and antiinflammatory activities of microalgae Spirulina. Cardiovasc Ther 2010; 28: e33-45.

[19] Asgari A, Parvin N. The analgesic effect of ethanolic extract of tanacetum parthenium in acetic acid model. Zahedan J Res Med Sci 2013; 15: 22-25. (Persian).

[20] Mani U, Iyer U, Dhruv S, Mani I, Sharma K. Therapeutic Utility of Spirulina. In: Gershwin ME, Belay A, editors. Spirulina in Human Nutrition and Health. Boca Raton: CRC Press 2008; 71-99.

[21] Somchit MN, Mohamed NA, Ahmad Z, Zakaria ZA, Shamsuddin L, Omar-Fauzee MS, Kadir AA. Anti-inflammatory and anti-pyretic properties of Spirulina platensis and Spirulina lonar: a comparative study. Pak J Pharm Sci 2014; 27: 1277-1280.

[22] Bachstetter AD, Jernberg J, Schlunk A, Vila JL, Hudson C, Cole MJ, et al. Spirulina promotes stem cell genesis and protects against LPS induced declines in neural stem cell proliferation. PLoS One 2010; 5: e10496.

[23] Stromberg I, Gemma C, Vila J, Bickford PC. Blueberry- and spirulina-enriched diets enhance striatal dopamine recovery and induce a rapid, transient microglia activation after injury of the rat nigrostriatal dopamine system. Exp Neurol 2005; 196: 298-307.

[24] Thaakur S, Sravanthi R. Neuroprotective effect of Spirulina in cerebral ischemia-reperfusion injury in rats. J Neural Transm 2010; 117: 1083-1091.

[25] Ghanbari A, Moradi Kor N, Rashidy-Pour A. Bombesin-induced enhancement of memory consolidation in male and female rat pups: Role of glutamatergic and dopaminergic systems. Neuropeptides 2018; 70: 101-106.

Spirulina Plathensis microalgae prevents scopolamine-induced memory impairment in young female Wistar rats

Abbas Ali Vafaei (Ph.D) [2,1], Masoomeh Dadkhah (Ph.D) [3,5], Nasrollah Moradikor (Ph.D Student)[1], Maryam Nazari (Ph.D Student) [4], Fatemeh sadat Naghibi nasab (M.D Student)[5], Mahsa Attar Moghaddam (M.D Student) [5], Ahmad Reza Bandegi (Ph.D) [6], Ali Rashidy Pour (Ph.D) [2,1], Ali Ghanbari (Ph.D) [*1]

1- Research Center of Physiology, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran
2- Dept. of Physiology, Faculty of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

3- Research Centers Development and Coordination Office, Deputy of Research and Technology, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran
4- Neurophysiology Research Center and Department of physiology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
5- Student Research Committee, Faculty of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran
6- Dept. of Biochemistry, Faculty of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

* Corresponding author. +98 9127313970 ghanbri@semums.ac.ir

Received: Aug 2018; Accepted: 10 Apr 2019

Introduction: Memory deficit is one of the clinical problems of Alzheimer's disease that progressively leads to cognitive impairment and dementia. In the present study, the effect of Spirulina plathensis microalgae on the scopolamine-induced memory impairment was evaluated.

Materials and Methods: Young female Wistar rats (30 days old) were used. Animals randomly were divided into 9 groups (Saline + Saline, Saline + Scopolamine 1mg/kg, Saline + Scopolamine 2 mg/kg, Spirulina 100 mg/kg + Scopolamine 2 mg/kg, Spirulina 200 mg/kg + Scopolamine 2 mg/kg, Spirulina 400 mg/kg + Scopolamine 2 mg/kg, Spirulina 100 mg/kg + Saline, Spirulina 200 mg/kg + Saline, Spirulina 400 mg/kg + Saline). To measure inhibitory avoidance (IA) task, animals were given an electrical footshock (0.5 mA, 3 s) and then was intraperitoneally treated by scopolamine and 24 latter memory retention tests (time delay to re-entrance to dark compartment) was recorded. Spirulina plathensis was dissolved in physiologic saline and the suspension was gavaged at doses of 100, 200, and 400 mg/kg for fourteen days prior to training. Biochemical experiments were included determination of Malondialdehyde (MDA) and total antioxidant capacity of serum using thiobarbituric acid and Ferric reducing ability of plasma (FRAP), respectively

Results: Our results showed that scopolamine (2 mg/kg) significantly ($P<0.001$) impaired memory retention respect to control and Spirulina plathensis significantly ($P<0.05$) improved memory impairment induced by scopolamine. Further, Spirulina significantly ($P<0.01$) increased FRAP level compared to the control.

Conclusion: Spirulina plathensis improves scopolamine induced-memory deficit, probably through enhancing total antioxidant capacity of serum probably.

Keywords: Avoidance Learning, Memory, Scopolamine, Memory Disorders, Scopolamine, Spirulina, Oxidative Stress.

Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir at 10:47 +0430 on Friday April 16th 2021