مقـــاله تحقیقی

بررسی اثر نوروتروفیک عصاره هیدروالکلی برگ گیاه پنیرک (Malva neglecta) بر روی نورون های هرمی ناحیه CA1 هیپوکامپ موش صحرایی نر متعاقب ایسکمی/ ریپرفیوژن

زهرا کرمانیها[1]، شبنم موثقی[2و3]، زهرا نادیا شریفی[2و3]*

[1] دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران.

[2] دانشیار گروه علوم تشریحی و علوم اعصاب شناختی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران.

[3] مرکز تحقیقات فارماکولوژی گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران.

* نشانی نویسنده مسئول:

گروه علوم تشریحی و علوم اعصاب شناختی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران.

نشانی الکترونیک:

Zsharifi@iautmu.ac.ir

چکیده

زمینه: سکته مغزی دومین علت مرگ ومیر در جهان می باشد که عوارض جبران ناپذیری را به جای می گذارد. ریپرفیوژن متعاقب ایسکمی با مکانیسم تولید اکسیدان ها و مارکر های التهابی سبب آپوپتوز نورونهای مغز میگردد. در مطالعات مختلف اثرات آنتی اکسیدانی و ضد التهابی گیاه پنیرک به اثبات رسیده است. لذا در این مطالعه، به بررسی اثر حفاظتی عصاره هیدروالکلی برگ گیاه پنیرک (Malva neglecta) بر روی نورون های هرمی ناحیه CA1 هیپوکامپ موش صحرایی نر ویستار متعاقب ایسکمی ریپرفیوژن پرداخته شد.

روش کار: در این مطالعه تجربی، ۲۴ موش صحرایی نر ویستار در ۴ گروه ۶ تایی کنترل، ایسکمی، آزمایشی یک و دو، به طور تصادفی تقسیم شدند. به گروه های آزمایشی تزریق عصاره هیدروالکلی برگ گیاه پنیرک با دوز ۶۰۰ mg/kg و ۳۰۰ به صورت داخل صفاقی، در زمان های ۰-۲۴-۴۸-۷۲ ساعت پس از ایسکمی ریپرفیوژن صورت گرفت. مدل ایسکمی با بستن شریانهای کاروتید مشترک دو طرف به مدت ۲۰ دقیقه و سپس ریپرفیوژن متعاقب آن انجام شد، چهار روز بعد بافت هیپوکامپ همه ی رت ها استخراج و به روش رنگ آمیزی نیسل مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که ایسکمی ریپرفیوژن در مغز به مدت ۲۰ دقیقه باعث دژنراسیون سلول های هرمی ناحیه CA1 هیپوکامپ گردیده و گروه ایسکمی کاهش قابل ملاحظه و معناداری را ($P<0.05$) نسبت به گروه کنترل نشان داد و از طرفی تزریق عصاره هیدروالکلی برگ گیاه پنیرک با دوز mg/kg ۶۰۰ تا حدود زیادی سبب حفظ نورون ها گردید، بطوریکه با گروه کنترل اختلاف معناداری را نشان نداد ($P= 0.107$).

نتیجه‌گیری: استفاده از عصاره هیدروالکلی برگ گیاه پنیرک با دوز mg/kg ۶۰۰ سبب جلوگیری از کاهش و مرگ نورونها در ناحیه CA1 هیپوکامپ متعاقب ایسکمی ریپرفیوژن در مغز رت ویستار می گردد، بنابر این عصاره گیاه پنیرک می تواند به عنوان یک عامل موثر در پیشگیری یا کاهش عوارض سکته مغزی به تنهایی و یا با سایر داروها مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: برگ گیاه پنیرک، هیپوکامپ، ایسکمی ریپرفیوژن، موش صحرایی.

مقدمه

ایسکمی مغزی یک معضل بزرگ جهانی است که از علل مهم ناتوانی در سن بالای ۶۵ سال و دومین علت مرگ و میر در جهان بوده (۲و۱) و سبب اختلالات عصبی مانند اختلال حسی، حرکتی، شناختی، تکلم و یادگیری فضایی میشود (۴و۳). ایسکمی مغزی سبب کاهش یا قطع جریان خون و متعاقب آن کاهش اکسیژن رسانی و گلوکز بافتی میشود. این امر سبب افت تولید آدنوزین تری فسفات (ATP) و شروع تنفس بی هوازی شده که به نوبه خود منجر به اسیدوز و تولید لاکتات و یون هیدروژن و در نتیجه آپوپتوز می گردد (۶و۵). ریپرفیوژن یا برگشت جریان خون متعاقب ایسکمی به جهت افزایش تولید رادیکال های آزاد مانند سوپراکسید، نیتریک اکسید و گونه واکنشگر اکسیژن (ROS) سبب عوارض و آسیب های بیشتری مانند اختلال کانال های یونی، آسیب به لیپید و پروتئین و نوکلئیک اسید سلول ها، افزایش سدیم و کلسیم گشته و در نتیجه به آپوپتوز سرعت می بخشد(۷).

از طرف دیگر یکی از مهم ترین عواقب ایسکمی مغزی افزایش مارکرهای التهابی مانند IL-1، IL-1B، TNFa و IL-6 می باشد که سبب افزایش گلبول های سفید خون و فعال کردن میکروگلی و آستروسیت ها، اختلال در سد خونی مغزی و افزایش نفوذ پذیری عروق و ادم مغز میشود (۷). نواحی مشخصی از مغز مثل هیپوکامپ و نورون های هرمی آن نسبت به ایسکمی حتی در زمان های کمتر از ده دقیقه بسیار آسیب پذیر می باشند (۹و۸). هیپوکامپ در ایجاد حافظه جدید و فضایی نقش دارد و جز مهمی در سیستم پاداش و جزا لیمبیک میباشد. بنابراین یافتن روش های درمانی و پیشگیری کننده که اثرات نوروپروتکتیو و نورورژنراتیو دارند در جهت کاهش آسیب های ایسکمی ریپرفیوژن از اهمیت بالایی برخوردار هست (۱۰). تا به امروز اثرنوروتروفیک مواد زیادی روی نورون های مغز مورد مطالعه قرار گرفته است، ولی از نظر بالینی هنوز راهکار موثری در برابر آسیب های ایسکمیک پیدا نشده است که این امر می تواند ناشی از کمبود اثر بخشی دارو ها و یا اثرات جانبی آن ها باشد. بنابراین کمک به بهبود بیماران در جهت کاهش آسیب های ناشی از سکته مغزی و پیشگیری از مرگ سلول ها رویکردی مهم محسوب می شود (۱). طب گیاهی از کهن ترین شیوه های درمانی است که توسط انسان شناخته شده است. استفاده از گیاهان دارویی برای پیشگیری و درمان بیماری ها از دیرباز مورد توجه بوده است (۱۱). امروزه، با توجه به عوارض جانبی کم و ارزان بودن آن ها نسبت به داروهای شیمیایی سنتتیک، جایگاه ویژه ای را در بهداشت و سلامت جامعه به خود اختصاص داده اند (۱۲). پنیرک معمولی (Malva neglecta)، گیاهی است از خانواده پنیرکیان (malvaceae)که تقریبا در تمام دنیا از جمله ایران به صورت خودرو رشد می کند (۱۳). این گیاه حاوی ترکیباتی است که دارای دامنه ی گسترده ای از فعالیت های ضد التهابی و آنتی اکسیدانی و قابلیت حذف رادیکال های آزاد می باشد (۱۴). آنتوسیانین با کاهش میزان رادیکال های آزاد و ظرفیت پراکسیداسیون لیپیدها و همچنین ترکیبات فنلی طبق تحقیقات متعدد از بهترین منابع آنتی اکسیدانی طبیعی هستند. ویتامین ها مثل کاروتینوئید، توکوفرول، فلاونوئید و آسکوربیک اسید و اسید های چرب (لینولنیک اسید، لینولئیک اسید، پالمیک اسید و اولئیک اسید) و کومارین و موسیلاژ نیز از ترکیبات این گیاه می باشند.

در مطالعات اخیر نشان داده شده است که گیاه پنیرک معمولی دارای اثرات ضد التهابی، آنتی اکسیدانی، آنتی کانسر، آنتی باکتریال و ترمیمی زخم می باشد و در درمان التهابات تنفسی، مجاری ادراری و گوارشی نقش بسزایی دارد (۱۴-۱۱). لذا در این مطالعه ما به بررسی اثر نوروتروفیک عصاره هیدرو الکلی برگ گیاه Malva neglecta بر روی نورون های هرمی ناحیه CA1 هیپوکامپ موش نر صحرایی ویستار متعاقب ایسکمی/ ریپرفیوژن پرداختیم.

روش کار

گروه بندی حیوانات

تحقیق حاضر به صورت تجربی در مرکز تحقیقات فارماکولوژی گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران بر روی ۲۴ سر موش نر صحرایی ویستار تهیه شده از انستیتوپاستور (با وزن۳۵۰-۳۰۰ گرم) انجام گرفت. حیوانات در دمای۲۳ تا ۲۵ درجه سانتی گراد، رطوبت ۵۰ درصد و با ۱۲ ساعت سیکل روشنایی-تاریکی نگهداری شده و با پلت های مخصوص جوندگان و آب کافی تغذیه شدند. این پروژه بر اساس پروتکل ها و دستورالعمل های توصیه شده کمیته اخلاق ملی و بین الملل انجام گردید.

رت ها به طور تصادفی به ۴ گروه ۶ تایی تقسیم شدند:

گروه کنترل: حیوانات در شرایط استاندارد آزمایشگاهی نگهداری شده و در پایان مدت مورد نظر توسط کتامین و زایلازین بیهوش شدند.

گروه ایسکمی: بعد از بیهوش کردن رت ها توسط کتامین و زایلازین، شریانهای کاروتید مشترک دو طرف به مدت ۲۰ دقیقه بسته شدند سپس بازگشت مجدد خون (ریپرفیوژن) انجام گرفت.

گروه آزمایشی اول: بعد از بیهوش کردن رت ها توسط کتامین و زایلازین، ایسکمی به مدت ۲۰ دقیقه و در ادامه ریپرفیوژن انجام شد و تزریق عصاره هیدروالکلی با دوز انتخابی ۳۰۰mg/kg بصورت داخل صفاقی (intraperitoneal=IP)، در زمان های ۰-۲۴-۴۸ و ۷۲ ساعت پس از ایسکمی ریپرفیوژن صورت گرفت.

گروه آزمایشی دوم: بعد از بیهوش کردن رت ها توسط کتامین و زایلازین، ایسکمی به مدت ۲۰ دقیقه و در ادامه ریپرفیوژن انجام

شد و تزریق عصاره هیدروالکلی با دوز انتخابی ۶۰۰mg/kg بصورت داخل صفاقی (Intraperitoneal)، در زمان های ۰-۲۴-۴۸ و۷۲ ساعت پس از ایسکمی ریپرفیوژن صورت گرفت. حیوانات تمامی گروه ها پس از ۴ روز کشته شدند و مغز حیوانات خارج و جهت رنگ آمیزی نیسل آماده شدند.

روش جراحی :

پس از القا بیهوشی، یک برش عمودی در ناحیه قدامی گردن حیوان (کمی پایین تر از آرواره ی تحتانی تا بالای جناغ) ایجاد شد و با کنار زدن عضله ی جناغی-چنبری-پستانی، شریان های کاروتید مشترک در هر دو سمت در معرض دید قرار گرفت و پس از جدا کردن عصب واگ از آنها، توسط کلامپ میکروسرجری به مدت ۲۰ دقیقه بسته شدند. سپس کلامپ ها برداشته شد و گردش خون مجددا برقرار گردید. در طول مدت جراحی درجه حرارت مقعدی حیوان به طور مرتب توسط ترمومتر اندازه گیری و با استفاده از لامپ گرمایی درجه حرارت در ۳۷ درجه سانتی گراد تثبیت شد. برش ایجاد شده توسط نخ بخیه نایلون سه صفر دوخته شد. رت ها تا موقع به هوش آمدن و تثبیت وضعیت تحت نظر قرار گرفته و بعد از جراحی به مدت ۲۴ ساعت در قفس های جداگانه نگهداری شدند.

بررسی بافتی:

تمامی حیوانات ۴ روز بعد از ایسکمی تحت بیهوشی عمیق کشته شدند و مغز آن ها به روش پرفیوژن قلبی به صورت اولیه فیکس و پس از قطع سر حیوان توسط گیوتین، از جمجمه خارج و به درون محلول فیکساتیو پارافرم آلدئید ۴ درصد به مدت سه روز قرار داده شد. پس از آماده سازی بافتی بلوکهای پارافینی در مقاطع کرونال و بصورت سریال و به ضخامت ۱۰ میکرون درفاصله 2.3-5mm از خلف برگما برش داده و رنگ آمیزی نیسل شدند. پس از تهیه لام، نمونه ها توسط میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی×400 بررسی شدند. از هر نمونه 8 فتومیکروگراف تهیه شد که سه فتومیکروگراف بطور تصادفی انتخاب و سلولهای ناحیه CA1 هیپوکامپ توسط نرم افزار Image tools2 شمارش شدند و میانگین آن ها محاسبه شد.

روش عصاره گیری هیدروالکلی:

پس از تهیه و خشک، شدن برگ گیاه را پودر کرده و سپس با دستگاه عصاره گیری و روش سوکسیله (حلال الکل ۸۰%) عصاره گیری کرده سپس مراحل خشک کردن (روتاری و خشک شدن در محیط آزمایشگاه) اعمال شد، (میزان رطوبت عصاره ۱۷ درصد گزارش شد). سپس عصاره خشک شده با نرمال سالین مخلوط و تحت گرما کاملا حل شد.

رعایت اصول اخلاقی :

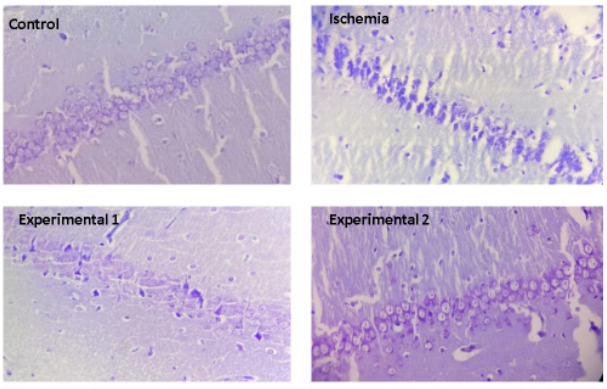
کلیه اصول اخلاقی مطالعه، مطابق با اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی و مطالعات انسانی مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی تهران با کد اخلاق IR.IAU.TMU.REC.1399.436 انجام گرفت. محیط آزمایشگاه دارای سیکل ۲۴ ساعته (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) بود و موش ها در قفس های پلاستیکی مخصوص به همراه آب و غذا کافی قرار گرفتند و قبل از هر پروسه دردناک مثل جراحی، رت ها تحت بیهوشی عمیق قرار میگرفتند.

روش آماری:

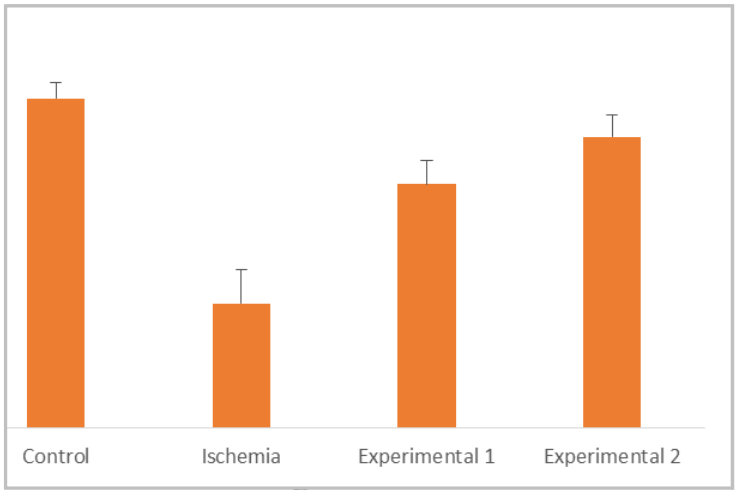
داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۳ و توسط آزمون آماری ANOVA یکطرفه و تست Tukey مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و سطح معنی داری بصورت $P<0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته ها

یافته ها نشان داد که بستن شریان کاروتید مشترک به مدت ۲۰ دقیقه و ریپرفیوژن متعاقب آن سبب کاهش شدید و معنا داری در تعداد نورون های CA1 هیپوکامپ نسبت به گروه کنترل گردید. ($P<0.05$) بطوریکه میانگین تعداد نورون ها در گروه کنترل از ۸۳ به ۳۱ در گروه ایسکمی کاهش یافت. همچنین بین گروه آزمایشی اول که عصاره را به میزان ۳۰۰ mg/kg دریافت کرده بودند و گروه کنترل اختلاف معناداری دیده شد. ($P<0.05$). یافته ها نشان داد که میانگین نورون های هرمی در گروه آزمایشی دوم بیشتر از گروه ایسکمی و به ۷۳ عدد افزایش یافته بود، بطوریکه به ندرت سلول های پیکنوتیک بین آن ها دیده شد. اختلاف آماری بین گروه آزمایش دوم که عصاره گیاه پنیرک را با دوز ۶۰۰ mg/kg دریافت کرده بودند با گروه ایسکمی معنا دار و $P<0.05$ بود در صورتیکه



شکل ۱- فتومیکروگراف از مقاطع کرونال ناحیه ی CA۱ هیپوکامپ گروه های مختلف آزمایشی. رنگ آمیزی نیسل. بزرگنمایی × ۴۰۰.



نمودار ۱ :میانگین تعداد نورون های هرمی سالم ناحیه CA1 هیپوکامپ در گروه های مختلف آزمایشی

این اختلاف با گروه کنترل معنا دار نبود (P=0.107) شکل (۱) و نمودار (1).

بحث:

یافته‌های ما در این بررسی نشان داد که ایسکمی/رپرفیوژن فراگیرگذرا در مغز به مدت ۲۰ دقیقه باعث مرگ تاخیری سلول‌های هرمی ناحیه CA1 گردیده و این سلول‌ها کاهش قابل ملاحظه‌ای را در تعداد متعاقب مرگ تاخیری نورون‌ها نشان دادند. نتایج ما همچنین نشان داد که تجویز عصاره هیدروالکلی گیاه پنیرک موجب کاهش دژنراسیون سلولی گشته و موجب مهار کاهش نورون های هرمی ناحیه CA1 شده است. فقدان اکسیژن و مواد غذایی متعاقب ایسکمی و به دنبال آن، جریان خون بازگشتی و برگشت اکسیژن در سلول ها باعث آسیب های ناشی از آزاد شدن رادیکال های آزاد مانند نیتریک اکسید و گونه های واکنشگر اکسیژن و درنتیجه سبب افزایش سدیم و کلسیم داخل سلول و تخریب غشا سلولی می گردد. تغییرات التهابی مانند افزایش مارکر هایی مثل TNFa -IL6-IL1 و افزایش سایتوکین های مترشحه از آستروسیت و میکروگلی و گلبول های سفید خون نیز سبب اختلال درسد خونی مغزی و ادم مغزی شده و همه موارد فوق سبب مرگ برنامه ریزی شده سلول و یا آپوپتوز میگردد (۷-۵). مرگ تاخیری سلول عصبی بعد از ایسکمی رپرفیوژن در نواحی حساس دستگاه عصبی مرکزی مانند ناحیه CA1 هیپوکامپ ثابت شده است (۱۵). از این رو مطالعات گسترده در جهت کاهش عوارض ایسکمی مغزی صورت گرفته تا این آسیب ها را به حداقل برسانند (۸). آنتی اکسیدان ها ترکیب هایی هستند که به طور قابل ملاحظه‌ای باعث کاهش سرعت واکنش اکسیداتیو می شوند (۱۶). تا کنون آنتی اکسیدان‌های طبیعی و مصنوعی زیادی جهت درمان و یا پیشگیری از بیماری‌های مرتبط با رادیکال های آزاد معرفی شده اند (۱۷). ثابت شده است که تعدادی از آنتی اکسیدان ها ی مصنوعی دارای عوارض جانبی می‌باشند (۱۸). گیاهان دارویی همیشه یک نقش کلیدی در مدیریت سلامت جهانی ایفا می کنند و بهترین درمان برای بیماری‌های متعدد محسوب می شوند (۱۹). در مطالعات گوناگون اثر آنتی اکسیدانی و ضد التهابی برگ گیاه پنیرک با مکانیسم های متعدد اثبات شده است، (۲۱-۲۰).

یکی از ترکیبات مهم موجود در پنیرک آنتوسیانین ها هستند که دارای فعالیت آنتی اکسیدانی و قابلیت حذف رادیکال آزاد می باشند. برگ گیاه پنیرک دارای آنتوسیانین بوده و خواص سیتوتوکسیک برای سلولهای توموری، ضدالتهاب وآنتی اکسیدانی دارند (۲۲). یافته های دیگر فعالیت ضد التهابی وآنتی اکسیدانی عصاره برگ پنیرک را به عنوان منبع آنتی اکسیدان طبیعی با ظرفیت بالا تایید می کنند (۲۳). فلاونوئیدها بزرگترین گروه ترکیبات فنلی طبیعی در گیاهان هستند (۲۴). اثر ضدالتهابی فلاونوئیدها را می توان به توانایی آنها در تنظیم کاهشی تولید نیتریک اکساید و مهار دگرانولاسیون نوتروفیل ها نسبت داد که خود موجب کاهش فعالیت آنزیم های پیش برنده التهاب می گردد(۲۵). همچنین فلاونوئیدها نقش ضد التهابی خود را از طریق مهار سنتز و فعالیت واسطه های التهابی مانند سیتوکین ها، اعمال میکنند (۲۶). از طرفی ترکیبات فلاونوئیدی موجود در این گیاه قدرت بالای مهارکنندگی رادیکال های آزاد را دارامی باشند (۲۷).

قاسمی پیر بلوطی، نشان داد که عصاره ی گیاه پنیرکِ کبیر (Malva Sylvestris) باعث کاهش سلول های التهابی در زخم در بیماری دیابت می گردد (۲۸). فلاونوئیدها یکی از مهارکننده های آنزیم

سنتزکننده ی نیتریک اکساید می باشند. تحقیقات نشان داده اند که فلاونوئیدها با مهار فعالیت گیرنده های N-متیل-D- آسپارتات سبب کاهش کلسیم داخل سلولی شده و به دنبال آن فعالیت آنزیم سنتزکننده ی نیتریک اکساید و فسفولیپاز A وابسته به کلسیم کاهش می یابد که با کاهش نیتریک اکساید التهاب کاهش می یابد (۲۹). از طرفی برخی پژوهش ها مشخص نموده اند که کاهش التهاب به علت اثر آنتی هیستامینی عصاره ی پنیرک می باشد (۳۰). فلاونوئیدهای موجود در عصاره هیدروالکلی پنیرک با جلوگیری از فعالیت سیکلواکسیژناز COX-2 از تولید پروستاگلاندین ها که به عنوان واسطه التهابی عمل می کنند، ممانعت نموده و موجب کاهش التهاب می گردند (۳۱).

نتیجه گیری

با توجه به مطالعات صورت گرفته در مورد مکانیسم گیاه پنیرک و با توجه به نتایج این مطالعه به نظر میرسد که خواص آنتی اکسیدانی و ضد التهابی پنیرک که احتمالا از طریق ترکیبات فلاونوئیدی آن می باشد می تواند تا حد زیادی از آسیب دیدگی نورونها در فرایند ایسکمی ریپرفیوژن جلوگیری کند. همچنین مطالعات بیشتر در زمینه استخراج ماده موثره و شناخت مکانیسم عمل دقیق، عوارض و میزان سمیت آن ضرورت دارد.

منابع

۱. Pourheydar B, Shahi M, Farjah GH, Javanmard M, Karimipour M, Atabaki F. Evaluation of apoptosis in hippocampal cells of rat following intravenous injection of bone marrow stromal cells in ischemia-reperfusion model. Studies in Medical Sciences 2014;25(7):586-97.

۲. خضری پ، نوشین، شریفی ن، شفارودی، انصاریان، غزل و همکاران. بررسی اثر داروی پنتوکسی فیلین بر روی اختلالات حافظه فضایی ناشی از ایسکمی/ ریپرفیوژن فراگیر

3. Andrews EM, Tsai SY, Johnson SC, Farrer JR, Wagner JP, Kopen GC, et al. Human adult bone marrow-derived somatic cell therapy results in functional recovery and axonal plasticity following stroke in the rat. Exp Neurol 2008;211(2):588-92.

4. Bokura H, Robinson RG. Long-term cognitive impairment associated with caudate stroke. Stroke. 1997;28(5):970-5.

5. Huang L, Chen N, Ge M, Zhu Y, Guan S, Wang JH. Ca2+ and acidosis synergistically lead to the dysfunction of cortical GABAergic neurons during ischemia. Biochem Biophys Res Commun 2010;394(3):709-14.

6. Simonová Z, Sterbová K, Brozek G, Komárek V, Syková E. Postnatal hypobaric hypoxia in rats impairs water maze learning and the morphology of neurones and macroglia in cortex and hippocampus. Behav Brain Res 2003;141(2):195-205.

7. Qin H, Qin J, Hu J, Huang H, Ma L. Malva Sylvestris Attenuates Cognitive Deficits in a Repetitive Mild Traumatic Brain Injury Rat Model by Reducing Neuronal Degeneration and Astrocytosis in the Hippocampus. Med Sci Monit 2017;23:6099-6106.

۸. زمانی، شاهی ح، سلیمانی، زمانی، چوبین، کتایون. تاثیر مصرف روغن زیتون بر کاهش عوارض سکته مغزی با تمرکز بر ناحیه ۹. هیپوکامپ. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران ۲۰۱۲؛ ۷(۲): ۸-۱.

9. Eichenbaum H. Hippocampus: cognitive processes and neural representations that underlie declarative memory. Neuron 2004;44(1):109-20.

۱۰. پناه زاده حسنعلی، سلیمانی منصوره، سلیمانی اصل سارا، مهدی زاده مهدی، کاتبی مجید. اثر TGF-α بر سلول های عصبی بنیادی شکنج دندانه ای و سلول های پیرامیدال ناحیه CA۱ هیپوکامپ در موش صحرایی به دنبال ایسکمی-ریپرفیوژن.

۱۱. شکراللهی شکوفه، حشمتی غلامعلی. مروری بر جنبه های مختلف گیاه دارویی پنیرک Malva sylvestris و یافته های تحقیقات نوین. مجله علوم پزشکی نیشابور ۲۰۱۶؛ ۱(۴): ۸-۱.

۱۲. ادهمی دح، شاملو ددص. راهبرد طب سنتی سازمان جهانی بهداشت ۲۰۰۵-۲۰۰۲.

۱۳. عماد م، غیبی دف، رسولی سم، خانجانزاده ر، جوزانی سم. گیاه دارویی -صنعتی پنیرک ۱۳۹.

۱۴. طاهانژاد محمد، برزگر محسن، سحری محمدعلی، نقدی بادی حسنعلی. ارزیابی فعالیت آنتی رادیکالی عصاره پنیرک (Malva sylvestris L.) و کاربرد آن در سامانه روغن.

15. Hossmann KA. Post-ischemic resuscitation of the brain: selective vulnerability versus global resistance. Prog Brain Res 1985;63:3-17.

16. Molitoris BA, Wagner MC. Surface membrane polarity of proximal tubular cells: alterations as a basis for malfunction. Kidney Int 1996;49(6):1592-7.

۱۷. فرهمند، تجلی. تاثیر عصاره مریم گلی لاله زاری بر تعداد سلول‌های لایه‌های مختلف قشر مخچه متعاقب ایسکمی- ریپرفیوژن در موش صحرایی. ارمغان دانش. ۲۰۱۶ Sep ۱۰؛۲۱(۶):۵۳۶-۵۱.

18. Zahmatkesh M, Kadkhodaee M, Arab HA, Ahadi A. Amelioration of rat renal ischemia/reperfusion injury by L-Nil. Physiology and Pharmacology 2006;10(1):63-9.

19. Dehpour AA, Ebrahimzadeh MA, Roudgar A, Nabavi SF, Nabavi SM. Antioxidant and antibacterial activity of Consolida orientalis. World Acad Sci Eng Technol 2011;73:162-6.

20. Medrano-Jiménez E, Jiménez-Ferrer Carrillo I, Pedraza-Escalona M, Ramírez-Serrano CE, Álvarez-Arellano L, Cortés-Mendoza J, et al. Malva parviflora extract ameliorates the deleterious effects of a high fat diet on the cognitive deficit in a mouse model of Alzheimer's disease by restoring microglial function via a PPAR-γ-dependent mechanism. J Neuroinflammation. 2019;16(1):143.

21. Aslam M, Sial AA. Neuroprotective Effect of Ethanol Extract of Leaves of Malva parviflora against Amyloid-β- (Aβ-) Mediated Alzheimer's Disease. Int Sch Res Notices 2014;2014:156976.

22. Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DE, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PA. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. Am J Clin Nutr 2001;74(4):418-25.

23. Lister RG. Ethologically-based animal models of anxiety disorders. Pharmacol Ther 1990;46(3):321-40.

24. Frutuoso Vda S, Monteiro MM, Amendoeira FC, Almeida AL, do Nascimento DD, Bérenger AL, et al. Analgesic and anti-inflammatory activity of the aqueous extract of Rheedia longifolia Planch & Triana. Mem Inst Oswaldo Cruz 2007;102(1):91-6.

25. Salah SM, Jäger AK. Screening of traditionally used Lebanese herbs for neurological activities. J Ethnopharmacol 2005;97(1):145-9.

26. Toker G, Küpeli E, Memisoğlu M, Yesilada E. Flavonoids with antinociceptive and anti-inflammatory activities from the leaves of Tilia argentea (silver linden). J Ethnopharmacol 2004;95(2-3):393-7.

27. Shokrollahi sh, Heshmat GH. A. Different Aspects of Mallow (Malva sylvestris) and Results of New Research Findings: A Review. J of Neyshabur Uni of Med Sci 2016; 4(1):1-8.

28. Pirbalouti AG, Koohpyeh A. Wound healing activity of extracts of Malva sylvestris and Stachys lavandulifolia. International Journal of Biology 2011;3(1):174-9.

29. Perez Gutierrez RM. Evaluation of hypoglycemic activity of the leaves of Malva parviflora in streptozotocin-induced diabetic rats. Food Funct 2012;3(4):420-7.

30. Noori Moogah S, Kameli M, Khanehzad M. Comparative Eevaluation of the Effect of Malva sylvestris and Bromhexine on Mucociliary System of Trachea in Chicken. JMP 2013, 2(46):150-155.

31. Hunskaar S, Hole K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. Pain 1987;30(1):103-114.