اثر مصرف خوراکی میوه گیاه خارخاسک بر یادگیری و حافظه موش صحرایی دیابتی: تعیین نقش پراکسیداسیون لیپیدی

*دکتر مهرداد روغنی(Ph.D)[1]- سهیل امید ملایری(Medical Stu.)[2]- صالح امید ملایری(Dental Stu.)[3]

*نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه شاهد، مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی

پست الکترونیک: mehjour@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله: ۹۰/۱۰/۷ تاریخ پذیرش: ۹۱/۸/۸

چکیده

مقدمه: دیابت در دراز مدت با اختلال یادگیری و حافظه همراه می‌شود. با توجه به اثر ضد دیابتی خارخاسک و اثر آنتی‌اکسیدانی آن در این پژوهش تأثیر این گیاه بر یادگیری و حافظه موش‌های صحرایی دیابتی بررسی شد.

هدف: بررسی تأثیر گیاه خارخاسک بر یادگیری و حافظه موش‌های صحرایی دیابتی

مواد و روش‌ها: ۳۲ موش صحرایی به چهار گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با خارخاسک، دیابتی، و دیابتی تحت درمان با خارخاسک تقسیم شدند. برای بررسی حافظه و یادگیری حیوانات، عملکرد در آزمون اجتنابی غیر فعال و درصد رفتار تناوب با استفاده از ماز Y تعیین شد. در هموژنه بافت هیپوکامپ مغز حیوانات، میزان مالون دی‌آلدئید تعیین شد.

نتایج: در موش‌های گروه دیابتی (p<۰/۰۱) در پایان کار در حین عبور کاهش تأخیر بروز کرد و گروه دیابتی تحت تیمار با گیاه، افزایش معنی‌دار این پارامتر را در مقایسه با گروه دیابتی نشان داد(p<۰/۰۱). درصد تناوب نیز در جانداران دیابتی بطور معنی‌دار کمتر از گروه کنترل بود(p<۰/۰۵) و درصد تناوب در گروه دیابتی تحت تیمار افزایش معنی‌دار در مقایسه با گروه دیابتی نشان داد(p<۰/۰۵). به‌علاوه، موش‌های دیابتی افزایش معنی‌دار در سطح بافتی مالون دی‌آلدئید(p<۰/۰۱) نشان دادند یعنی درمان با خارخاسک میزان مالون دی‌آلدئید(p<۰/۰۱) را به صورت معنی‌دار کاهش داد.

نتیجه‌گیری: تجویز خوراکی خارخاسک بر توانایی نگهداری اطلاعات در انبار حافظه و یادآوری آنها در حیوانات دیابتی تأثیر دارد و موجب بهبود حافظه فضائی حیوانات دیابتی می‌شود. بخشی از آثار سودمند گیاه با کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در بافت هیپوکامپ اعمال می‌شود.

کلید واژه‌ها: پراکسیداسیون لیپید/ حافظه/ خارخاسک/ دیابت قندی/ یادگیری

مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دوره بیست‌و دوم شماره ۸۵، صفحات: ۹۵-۸۸

مقدمه

دیابت یکی از شایع‌ترین بیماری‌های غدد درون‌ریز بدن شناخته می‌شود که پیش‌بینی می‌شود، در چند سال دیگر شیوع آن در جامعه انسانی افزایش چشمگیر نشان دهد(۱). بروز دیابت قندی یکی از عوامل خطر مهم در ایجاد دمانس پیری است که خود از علائم ظاهر شده در آلزایمر محسوب می‌شود(۲). هر چند تاکنون پژوهش زیادی در مورد ارتباط بین دیابت و نوروپاتی محیطی انجام شده، ولی در زمینه تأثیر دیابت بر دستگاه اعصاب مرکزی بویژه مغز از نظر ساختمانی و عملکرد(تغییر رفتار شامل یادگیری و حافظه) اطلاعات بسیار کمی وجود دارد(۳). دیابت بویژه نوع ۱ موجب بروز اختلال در روند مرتبط با یادگیری، حافظه و شناخت در حیوانات مبتلا می‌شود. ارتباط تنگاتنگ بین بروز دیابت و ظهور کاستی در یادگیری و حافظه در جانوران آزمایشگاهی دیده می‌شود که مکانیسم‌های مسئول بروز این اختلال بخوبی شناخته نشده هر چند برای دو فرضیه میکرووواسکولار و استرس اکسیداتیو ناشی از تشدید تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن گواه زیادی یافت شده‌است(٤). به‌علاوه، دیابت از نظر ساختمانی موجب کاهش بارز تراکم نورون‌ها در ناحیه شکنج دندانه‌دار می‌شود که نقش مهمی در روندهای حافظه و یادگیری فضایی ایفا می‌کند(۲،۵و٦).

در چند سال اخیر توجه جهانی به استفاده از منابع گیاهی با خواص داروئی برای درمان و پیشگیری از عوارض بیماری‌های سخت و بدون درمان قطعی جلب شده و پژوهش زیادی در این مورد انجام شده است(۷). از این نظر برای گیاه

۱. تهران، دانشگاه شاهد، مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی ۲. تهران، دانشگاه شاهد، کمیته تحقیقات دانشجویی

۳. تهران، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم دارویی

خارخاسک و آثار سودمند آن در بیماری‌های مختلف گواه پژوهشی متعدد وجود دارد. نشان داده شده عصاره الکلی یکی از گیاهان خانواده خارخاسک و خود این گیاه در الگوی تجربی دیابت القا شده توسط استرپتوزوتوسین خاصیت هیپوگلیسمی و هیپولیپیدمی دارد(۸). همچنین، مواد مؤثر آن در گروه ساپونین‌ها اثر حفاظتی در برابر انفارکتوس میوکارد بطن چپ در مدل تجربی هیپرلیپیدمی در موش‌های صحرائی داشته(۹) و تجویز گیاه موجب کاهش قندخون شده و شاخص‌های پراکسیداسیون لیپیدی شامل کاهش گلوتاتیون پراکسیداز وسوپراکسید دیسموتاز و افزایش مالوندی‌آلدئید را به حد طبیعی برمی‌گرداند(۱۰). به‌علاوه، خاصیت ضد آپوپتوز ساپونین‌های مشتق از خارخاسک در نورون‌های قشر مغز موش‌های صحرائی به اثبات رسیده است(۱۱). همچنین، پژوهشگران نشان داداند که تجویز خوراکی خارخاسک در خرگوش‌های دچار هیپرلیپیدمی می‌تواند از تغییر ناپسند در ناحیه قشر مغز جلوگیری کند(۱۲). بنابراین و با نبود مطلب در مورد اثر خارخاسک بر یادگیری و حافظه در حالت دیابت یا بیماری‌های مرتبط، هدف، ارزیابی اثر تجویز خوراکی خارخاسک بر یادگیری و حافظه در موش‌های صحرایی دیابتی با استفاده از آزمون اجتنابی غیر فعال و ماز Y بود.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی از ۳۲ سر موش صحرایی نر سفید نژاد ویستار(انستیتو پاستور، تهران) در محدوده وزنی ۲۴۵-۱۷۵ گرم استفاده شد. تمام حیوان‌ها در دمای ۲۳-۲۱ درجه سانتی‌گراد در گروه‌های ۳ تا ٤ تایی در هر قفس قرار داده‌شدند. حیوان‌ها به مدت ٦ هفته آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای مخصوص موش(شرکت خوراک دام پارس، کرج) دسترسی داشتند. بررسی بر اساس پروتکل‌ها و دستور کار توصیه شده انستیتو ملی بهداشت آمریکا(NIH) برای نگهداری و استفاده از جانداران آزمایشگاهی و نیز راهکارهای عملی موجود در داخل کشور انجام شد. برای تهیه غذا، پس از تأیید علمی، پودر آسیاب شده میوه خارخاسک با نسبت وزنی ۳٪ با غذای پودر شده و استاندارد موش، مخلوط و دوباره غذا تولید شد. در این بررسی میزان گلوکز سرم موش‌های صحرایی در شرایط طبیعی و حالت روزه داری(به مدت یک شب)، کمتر از ۱۳۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود. برای خونگیری از شبکه رترواوربیت و لوله موئینه استفاده شد. از هر حیوان حدود ۱ میلی‌لیتر خون گرفته شد. ۳۲موش به طور تصادفی به ٤ گروه کنترل، کنترل تیمار شده با خارخاسک، دیابتی و دیابتی تیمار شده با خارخاسک تقسیم شدند. غذای حاوی خارخاسک به مدت ٦ هفته در اختیار موش‌ها قرار گرفت. برای دیابتی کردن موش‌ها، از استرپتوزوتوسین (سیگما، آمریکا) به صورت تک دوز و داخل صفاقی به میزان ٦۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم حل شده در محلول سالین فیزیولوژی سرد استفاده شد. یک هفته پس از تزریق برای اطمینان از دیابتی بودن حیوانات، قند ادرار به روش نوار ادراری(شرکت گلوکو یاب، تهران) کنترل شد و فقط حیوانات دیابتی با قند ادرار بالاتر از ۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر به مرحله بعدی برای شروع تیمار راه یافتند این مقدار با قند خون بالاتر از ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر با در نظر گرفتن آستانه فیزیولوژی ظهور قند در ادرار برابری می‌کند. البته در روزهای بعد بتدریج نشانه‌های بارز دیابت نظیر پرخوری، پرنوشی، دیورز و کاهش وزن نیز در برخی موش‌ها دیده شد. افزون بر آن کاهش وزن در پایان کار در تمام موش‌ها بروز کرد. وزن و گلوکز سرم جانوران قبل از کار و در طی هفته‌های ۳ و ٦ پس از بررسی تعیین شد. همچنین، گلوکز سرم به روش آنزیمی گلوکز اکسیداز (شرکت زیست شیمی، تهران) با استفاده از اسپکتروفتومتر(اسپکترونیک ۲۰، آمریکا) اندازه‌گیری شد.

آزمون رفتار اجتنابی غیرفعال(Passive avoidance test) برای بررسی رفتار احترازی غیرفعال از دستگاهی به اندازه ۲۰ × ۸۰ ×۲۰ سانتی‌متر(شاتل باکس) که دارای یک محفظه روشن و یک محفظه تاریک بود استفاده شد(۱۳). میله‌های فلزی موجود در کف محفظه تاریک برای شوک دادن به پای حیوان بکار رفت و برای اعمال تحریک به محفظه تاریک از دستگاه استیمولاتور خاص(بهبودپرداز، تهران) و تک تحریکی به شدت ۱ میلی‌آمپر به مدت ۱ ثانیه اعمال شد. روش بررسی رفتار احترازی غیرفعال به شرح زیر بود:

الف- سازش(Adaptation): هر حیوان به‌مدت ۲ روز متوالی پیش از شروع آزمایش دست‌کم ۵ دقیقه در داخل دستگاه قرار

داده‌شد.

ب- اکتساب(Acquisition): روز سوم حیوان را در محفظه روشن قرار داده و به‌مدت ۲ دقیقه این محفظه تاریک نگه داشته‌شد. در این مدت در گیوتینی ارتباط‌دهنده محفظه روشن و تاریک کاملاً بسته بود. در انتهای دوره، لامپ محفظه را روشن کرده و در گیوتینی باز می‌گردید. به‌محض باز کردن در، کرنومتر را بکار انداخته و مدتی که طول می‌کشید تا حیوان از محفظه روشن به محفظه تاریک برود یادداشت می‌شد که به این مدت تأخیر اولیه یا IL(Initial latency) گفته می‌شود(ملاک برای ورود حیوان به محفظه تاریک عبور اندام‌های حرکتی پشتی حیوان از در ارتباط‌دهنده دو محفظه بود). سپس، در را پائین آورده و یک تک شوک(۱ میلی‌آمپر، ۱ ثانیه) به حیوان وارد می‌آمد. در پایان کار پس از ۱ دقیقه حیوان به قفس منتقل می‌شد. موش‌های با تأخیر اولیه بیش از ٦۰ ثانیه از آزمایش حذف شدند. تأخیر اولیه، توانائی حیوان در نشان دادن رفتار طبیعی(نورگریزی) و اکتساب رفتار را نشان می‌دهد که هرچه کمتر باشد حیوان طبیعی‌تر محسوب می‌شود.

ج- نگهداری و به یادآوری اطلاعات(Retention and Recall): این مرحله ٢٤ ساعت پس از مرحله دوم در روز چهارم انجام شد که مشابه مرحله قبل بود با این تفاوت که با ورود حیوان به محفظه تاریک هیچ‌گونه شوکی دریافت نمی‌کرد. در این مرحله، تأخیر در حین عبور یا STL (Step-through latency) اندازه‌گیری شد. منظور از STL مدتی است که حیوان پیش از ورود به محفظه تاریک در محفظه روشن باقی می‌ماند. تأخیر در حین عبور نشاندهنده توانائی حیوان برای نگهداری اطلاعات در انبارهای حافظه و قدرت به یادآوری آنهاست که افزایش آن به مفهوم تقویت توانائی حیوان برای این منظور می‌باشد. هنگام قطع آزمایش(Cut-off time) در صورتی‌که موش وارد محفظه تاریک نشود نیز ٦۰۰ ثانیه در نظر گرفته شد.

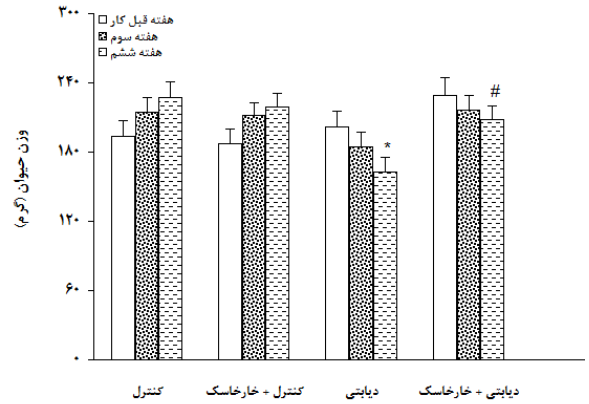
آزمون Y-maze و اندازه‌گیری رفتار تناوب(Alternation behavior): این آزمون در پایان کار ۳-۲ روز قبل از آزمون رفتار اجتنابی انجام شد. یعنی عملکرد حیوانات از نظر حافظه کاری با مشاهده و اندازه‌گیری رفتار تناوب خودبخودی حیوان در یک جلسه کاری بررسی شد(۱۳). ماز مربوط به این آزمون از جنس پلکسی گلاس و هر بازو به ابعاد ٤۰×۳۰× ۱۵ بود از طریق یک محوطه مرکزی به هم وصل می‌شدند. برای آزمون، هر موش صحرایی در بخش انتهایی یک بازو قرار داده شده و امکان دسترسی آزاد وی به تمام نواحی ماز در یک دوره زمانی ۸ دقیقه فراهم می‌شد. دفعات ورود حیوان به‌داخل هر بازو با مشاهده ثبت می‌شد. که هنگامی بود که پاهای عقبی حیوان به‌طور کامل در داخل بازو قرار می‌گرفت. رفتار تناوب به عنوان ورودهای موفق و پشت سر هم(سریال) به داخل تمام بازوها در مجموعه‌های سه تایی در نظر گرفته شد. بدین ترتیب درصد تناوب از نسبت تناوب مشاهده شده به بیشینه تناوب[(۲ – تعداد کل بازوهای وارد شده) × ۱۰۰] محاسبه شد.

سنجش مالون‌دی‌آلدئید بافتی: پس از پایان کار و کشتن حیوان به روش یوتنزی، بافت مغز از بدن جدا شده و پس از شستشو با محلول نمک سرد و خشک کردن بسرعت توزین شده، سپس به همراه بافر تریس به مدت ۲ دقیقه در دستگاه هموژنایزر با دور ۵۰۰۰ دور در دقیقه هموژنیزه(۱۰٪) و پس از آن سانتریفوژ شد. برای جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها و پروتئین‌ها تمام مراحل گفته شده در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد (سانتریفوژ یخچال‌دار) انجام شد. پس از سانتریفوژ، محلول رویی شفاف از بقیه آن جدا و بخش زیرین رسوب کرده دور ریخته و از محلول شفاف رویی برای سنجش استفاده شد. اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید MDA بر اساس روش‌های قبلی به روش با اساس اسید واکنش تیوباربیتوریک TBA است که در دمای جوش انجام می‌شود(۱۳).

آنالیز آماری: تمام نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌است. در مورد وزن و میزان گلوکز سرم حیوانات و میزان مالون‌دی‌آلدئید، برای مقایسه بین گروهی نتایج از آزمون آنووای یک طرفه و پست تست توکی و مقایسه داده‌ها در زمان‌های مختلف از آزمون آنووای با اندازه‌گیری مکرر استفاده شد. به‌علاوه، آزمون غیرپارامتریک کروسکال والیس برای آنالیز داده‌های آزمون رفتاری بکار رفت. در تمام بررسی‌ها، $p<۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

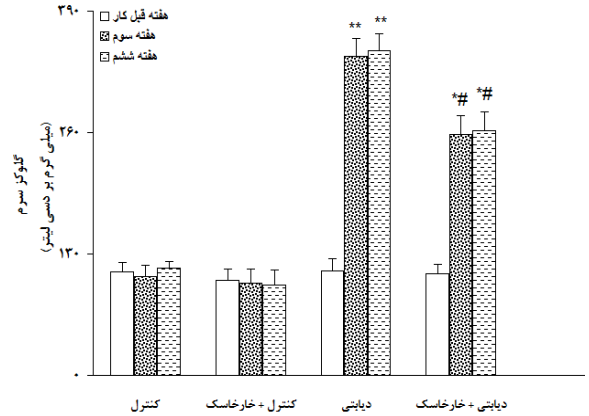
از نظر وزن حیوان، افزایش در گروه کنترل تحت تیمار با خارخاسک در هفته‌های سوم و ششم مشاهده شد. در گروه دیابتی در هفته ششم کاهش معنی‌دار در مقایسه با هفته قبل از بررسی(p<۰/۰۵) دیده شد. همین وضع در گروه دیابتی دریافت کننده خارخاسک نیز وجود داشت هر چند کاهش وزن در گروه دیابتی تحت تیمار با خارخاسک در مقایسه با گروه دیابتی در هفته چهارم کمتر بود و وزن آنها به‌طور معنی‌دار از گروه دیابتی بیشتر بود(p<۰/۰۵) (نمودار ۱).



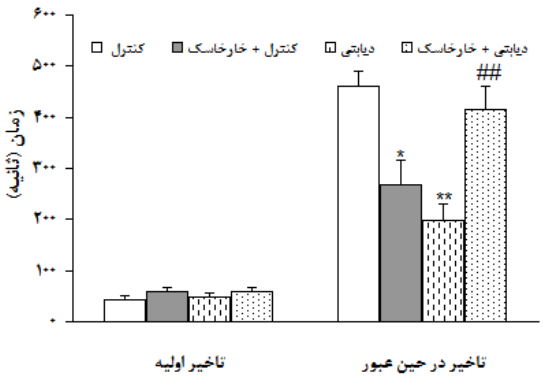
نمودار ۱. تغییرات وزن حیوانات در هفته قبل کار و هفته‌های سوم و ششم در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمار شده با خارخاسک
*** p<۰/۰۵ (در مقایسه با هفته قبل کار در همان گروه) ، # p<۰/۰۵ (در مقایسه با گروه دیابتی در همان هفته)**

مقدار گلوکز سرم، در دو گروه دیابتی و دیابتی تحت تیمار با خارخاسک در هفته ششم در حد معنی‌دار(p<۰/۰۰۰۵ تا p<۰/۰۰۵) بیشتر از گروه کنترل بود و درمان با خارخاسک، این افزایش را تخفیف داد به‌طوری‌که در گروه دیابتی زیر درمان، میزان گلوکز سرم در هفته ششم به‌طور معنی‌دار کمتر از گروه دیابتی درمان نشده بود(p<۰/۰۵) (نمودار ۲).

از نظر یادگیری و حافظه نیز کاهش معنی‌دار تأخیر در حین عبور(که شاخصی از توانائی حیوان برای ذخیره‌سازی اطلاعات و یادآوری آنهاست) در موش‌های دیابتی(p<۰/۰۱) در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد(F (3,26)=4.51، p< ۰/۰۱). این تأخیر در گروه دیابتی تحت تیمار به‌طور معنی‌دار بیش از گروه دیابتی بود(F (3,26)=4.51 ، p<۰/۰۱). تیمار موش‌های گروه کنترل با گیاه به‌طور غیرمنتظره کاهش معنی‌دار تأخیر در حین عبور را در مقایسه با گروه کنترل بدنبال داشت (F (3,26)=4.51، p<۰/۰۵) (نمودار ۳).

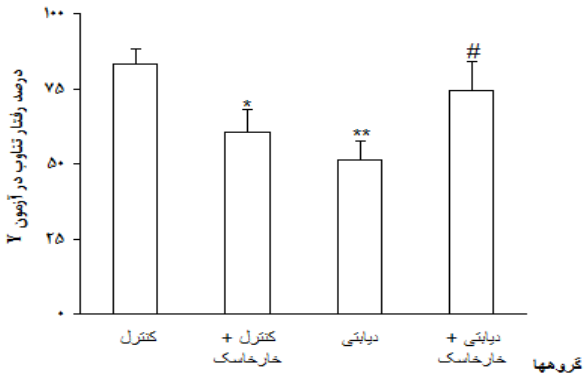


نمودار ۲- تغییرات گلوکز سرم در هفته قبل کار و هفته های سوم و ششم در موشهای صحرایی کنترل و دیابتی تیمار شده با خارخاسک
**** p<۰/۰۰۵، *** p<۰/۰۰۰۵ (در مقایسه با هفته قبل کار در همان گروه)، # p<۰/۰۵ (در مقایسه با گروه دیابتی در همان هفته)**

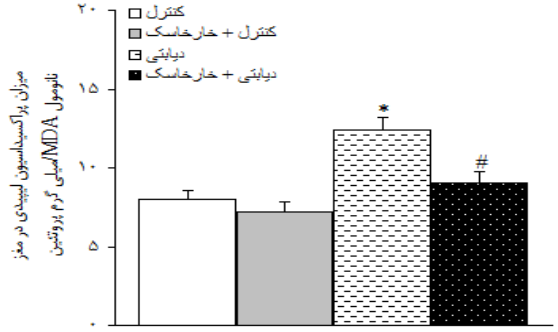


نمودار ۳. میزان تأخیر اولیه و تأخیر در حین عبور در ازمون اجتنابی غیر فعال در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمار شده با خارخاسک پس از گذشت ٦ هفته * p<۰/۰۵ ، ** p<۰/۰۱ (در مقایسه با گروه کنترل)، ## p<۰/۰۱ (در مقایسه با گروه دیابتی)

نتایج آزمون ماز Y که شاخصی از حافظه فضائی کوتاه مدت در جوندگانی نظیر موش صحرائی می باشد نشان داد که در صد تناوب در حیوانات دیابتی به‌طور معنی دار کمتر از گروه کنترل است. (F (3,26)=3.42، p< ۰/۰۵) همچنین درصد تناوب در گروه دیابتی تحت تیمار با خارخاسک تفاوت معنی دار با گروه دیابتی نشان داد (F (3,26)=3.42، p< ۰/۰۵) و تجویز گیاه به گروه کنترل نیز کاهش معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل ایجاد کرد (F (3,26)=3.42 ، p<۰/۰۵) (نمودار٤). سطح مالون دی‌آلدئید که شاخصی از استرس اکسیداتیو است، در گروه دیابتی افزایش قابل ملاحظه و معنی دار نسبت به گروه کنترل نشان داد (p<۰/۰۱) و در گروه دیابتی تحت تیمار با خارخاسک میزان افزایش مالون دی آلدئید نسبت به گروه دیابتی و در گروه دیابتی تحت تیمار با خارخاسک به طور معنی‌دار کمتر از گروه دیابتی بود (p<۰/۰۱) (نمودار ۵).



نمودار ٤. میزان درصد تناوب در آزمون ماز Y در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمار شده با خارخاسک پس از گذشت ٦ هفته * P<۰/۰۵ ** P<۰/۰۱ (در مقایسه با گروه کنترل)، # p<۰/۰۵ (در مقایسه با گروه دیابتی تیمار نشده)



نمودار ۵. میزان مالوندی‌آلدئید بافت مغز در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمار شده با خارخاسک در پایان هفته ششم * P<۰/۰۱ (در مقایسه با گروه کنترل)، # P<۰/۰۱ (در مقایسه با گروه دیابتی تیمار نشده)

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش نشان داد که در موش‌های دیابتی و دیابتی تحت تیمار با گیاه افزایش مختصر و غیر معنی‌دار در تأخیر اولیه در مقایسه با گروه کنترل وجود دارد. همچنین، کاهش تأخیر در حین عبور در موش‌های گروه دیابتی در پایان کار وجود داشت و گروه دیابتی تحت تیمار با گیاه افزایش معنی‌دار این پارامتر را در مقایسه با گروه دیابتی نشان داد. درصد تناوب نیز در حیوانات دیابتی به‌طور معنی‌دار کمتر از گروه کنترل بود ($p<۰/۰۵$) و درصد تناوب در گروه دیابتی تحت تیمار با گیاه افزایش معنی‌دار را با گروه دیابتی نشان داد. به‌علاوه، موش‌های دیابتی افزایش معنی‌دار در میزان بافتی مالون‌دی‌آلدئید نشان دادند و درمان با خارخاسک میزان مالون‌دی‌آلدئید را به صورت معنی‌دار کاهش داد.

بر اساس یافته‌های پیشین، بروز دیابت در جانوران آزمایشگاهی (نظیر موش صحرایی) و جامعه انسانی با اختلال در روندهای شناختی، حافظه و یادگیری، آتروفی مغز و افزایش احتمال ابتلای به دمانس همراه است. هر چند که مکانیسم بروز آن بخوبی شناخته نشده ولی مشخص شده که دو ناحیه قشر مغز و هیپوکامپ که از نواحی اصلی مرتبط با این روندها محسوب می‌شوند به میزان زیاد به‌دنبال دیابتی شدن متأثر می‌شوند. در این ارتباط بروز دیابت موجب تشدید استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی در برخی نواحی مغزی شامل هیپوکامپ شده و میزان فاکتورهای رشد شبه انسولین و فاکتور نوروتروفی مشتق از مغز در برخی نواحی مغز کاهش می یابد (۱۵و۱٤). کاهش توانایی حیوانات دیابتی در ارتباط با تثبیت و یادآوری اطلاعات انبار شده پس از یک ماه گزارش شده است(۱٤) که همین نتیجه در بررسی ما نیز بدست آمد. بر اساس شواهد موجود، تغییر در این توانائی‌ها را می توان به تغییر پلاستیسیته سیناپسی در ناحیه هیپوکامپ و در نتیجه ایجاد اختلال در روند تقویت دراز مدت نسبت داد. البته شایان ذکر است که هر چند این تغییر بیشتر در تثبیت اطلاعات دخالت دارند ولی بر اساس شواهد پژوهشی جدید به میزان کمتر در فراگیری مهارت‌های جدید و پیچیده نیز می‌تواند دخالت داشته باشد(۱٦).

در بررسی ما اثر سودمند تجویز دراز مدت خارخاسک بر یادگیری و حافظه در آزمون اجتنابی غیرفعال و برحافظه فضائی کوتاه مدت در آزمون ماز Y در حیوانات دیابتی پس از ٦ هفته تأئید شد. پیش از این مشخص شد که بروز دیابت در موش کوچک آزمایشگاهی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین موجب افزایش استرس اکسیداتیو ناشی از تشدید تشکیل رادیکال‌های فعال اکسیژن در برخی نواحی مغز می‌شود بخصوص در دو ناحیه هیپوکامپ و قشر مغز که خود از نواحی اصلی یادگیری و حافظه است(۵و٦) از طرف دیگر خارخاسک موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و حفاظت نورون‌ها در برابر عوامل آسیب‌رسان می‌شود و از این طریق میزان پارامترهای مربوطه را کاهش می‌دهد(۱۰و۱۱). در این بررسی با اندازه‌گیری سطح مالون‌دی‌آلدئید در بافت هیپوکامپ مغز که یکی از شاخص‌های بارز پراکسیداسیون لیپیدی در نواحی بافتی است، مشخص شد که با مصرف خوراکی گیاه خارخاسک میزان آن در مغز حیوانات دیابتی کاهش می‌یابد که بخشی از بهبود یادگیری و حافظه مشاهده شده در این تحقیق را توجیه می‌کند. دیابت قندی با تشدید روند استرس اکسیداتیو همراه بوده و بخشی از تغییر بیوشیمی خون در دیابت قندی بویژه در دیابت وابسته به انسولین از این راه توجیه می‌شود(۱)، لذا بخشی از آثار سودمند این ماده را می‌توان به کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو نسبت داد که این با نتایج تحقیقات قبلی در مورد تأثیر این گیاه تا حدودی همخوانی دارد(۱۰).

در این مطالعه مصرف خوراکی گیاه خارخاسک موجب کاهش حافظه فضائی و توانائی یادگیری و حافظه در موش‌های گروه کنترل شد ولی این اثر در گروه دیابتی دیده نشد. در توجیه این اثر می‌توان گفت که در موش‌های دیابتی مصرف خوراکی گیاه با کاهش میزان گلوکز سرم موجب بهبود یادگیری و حافظه شده‌است در حالی‌که در حالت طبیعی این فرضیه وجود دارد که گیاه می‌تواند موجب برهم زدن سیستم‌های میانجی مغز مرتبط با مدارهای حافظه بشود که این یافته پیش از این گزارش شده بود(۱۷) هر چند که خود این موضوع به تحقیق بیشتر نیاز دارد.

مصرف خوراکی خارخاسک بر توانایی نگهداری اطلاعات در انبار حافظه و یادآوری آنها در حیوانات دیابتی تأثیر دارد و موجب بهبود حافظه فضائی آنان می‌شود که بخشی از تأثیر سودمند گیاه با کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در بافت هیپوکامپ اعمال می‌شود.

تشکر و قدردانی: این تحقیق مصوب کمیته تحقیقات دانشجوئی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد(تهران) در سال ۱۳۸۹ بود و توسط معاونت محترم پژوهشی این دانشگاه حمایت مالی شده که بدین‌وسیله قدردانی می‌شود. در ضمن، نویسندگان مقاله مراتب تشکر وافر خود را از سرکار خانم فریبا انصاری کارشناس گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی به علت کمک در انجام آزمایش‌ها اعلام می‌دارند.

منابع

1. Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes Mellitus: Complications and Therapeutics. Med Sci Monit 2006; 12: RA130-47.

2. Biasibetti R, Tramontina AC, Costa AP, Dutra MF, Quincozes-Santos A, Nardin P, Bernardi CL, et al. Green tea (-) epigallocatechin-3-Gallate Reverses Oxidative Stress and Reduces Acetylcholinesterase Activity in a Streptozotocin-induced Model of Dementia. Behav Brain Res 2012; 236C:186-193.

3. Weaver C, Turner N, Hall J. Review of the Neuroanatomic Landscape Implicated in Glucose Sensing and Regulation of Nutrient Signaling: Immunophenotypic Localization of Diabetes Gene Tcf7l2 in the Developing Murine Brain. J Chem Neuroanat 2012;45(1-2):1-17.

4. Parihar MS, Chaudhary M, Shetty R, Hemnani T. Susceptibility of Hippocampus and Cerebral Cortex to Oxidative Damage in Streptozotocin Treated Mice: prevention by Extracts of Withania Somnifera and Aloe vera. J Clin Neurosci 2004; 11:397-402.

5. Reagan LP, McEwen BS. Diabetes, but Not Stress, Reduces Neuronal Nitric Oxide Synthase Expression in Rat Hippocampus: Implications for Hippocampal Synaptic Plasticity. Neuroreport 2002; 13: 1801-1804.

6. Baydas G, Nedzvetskii VS, Nerush PA, Kirichenko SV, Yoldas T. Altered Expression of NCAM in Hippocampus and Cortex May Underlie Memory and Learning Deficits in Rats with Streptozotocin-induced Diabetes Mellitus. Life Sci 2003; 73:1907-1916.

7. Hung HY, Qian K, Morris-Natschke SL, Hsu CS, Lee KH. Recent Discovery of Plant-Derived Anti-diabetic Natural Products. Nat Prod Rep 2012; 29(5):580-606.

8. El-Tantawy WH, Hassanin LA. Hypoglycemic and Hypolipidemic Effects of Alcoholic Extract of Tribulus alatus in Streptozotocin-induced Diabetic Rats: a Comparative Study with T. Terrestris. Indian J Exp Biol 2007; 45: 785-90.

9. Guo Y, Shi DZ, Yin HJ, Chen KJ. Effects of Tribuli Saponins on Ventricular Remodeling after Myocardial Infarction in Hyperlipidemic Rats. Am J Chin Med 2007; 35: 309-16.

10. Amin A, Lotfy M, Shafiullah M, Adeghate E .The Protective Effect of Tribulus Tterrestris in Diabetes. Ann N Y Acad Sci 2006; 1084: 391-401.

11. Liu XM, Huang QF, Zhang YL, Lou JL, Liu HS, Zheng H. Effects of Tribulus Terrestris L. Saponion on Apoptosis of Cortical Neurons Induced by Hypoxia-Reoxygenation in Rats. Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao 2008;6(1):45-50.

12. Berkman Z, Tanriover G, Acar G, Sati L, Altug T, Demir R. Changes in the Brain Cortex of Rabbits on a Cholesterol-rich Diet Following Supplementation with a Herbal Extract of Tribulus Terrestris. Histol Histopathol 2009; 24(6):683-92.

13. Nasri S, Roghani M, Baluchnejadmojarad T, Balvardi M, Rabani T. Chronic Cyanidin-3-Glucoside Administration Improves Short-term Spatial Recognition Memory but Not Passive Avoidance Learning and Memory in Streptozotocin-diabetic Rats. Phytother Res 2012; 26(8):1205-10.

14. Lupien SB, Bluhm EJ, Ishii DN. Systemic Insulin-like Growth Factor-I Administration Prevents Cognitive Impairment in Diabetic Rats, and Brain IGF Regulates Learning/Memory in Normal Adult Rats. J Neurosci Res 2003; 74:512-523.

15. Sima AA, Li ZG. The Effect of C-peptide on Cognitive Dysfunction and Hippocampal Apoptosis in Type 1 Diabetic Rats. Diabetes 2005; 54:1497-1505.

16. Biessels GJ, Ter Laak MP, Kamal A, Gispen WH. Effects of the Ca2+ Antagonist Nimodipine on Functional Deficits in the Peripheral and Central Nervous System of Streptozotocin-Diabetic Rats. Brain Res 2005; 1035:86-93.

17. Konar A, Shah N, Singh R, Saxena N, Kaul SC, Wadhwa R, Thakur MK. Protective Role of Ashwagandha Leaf Extract and Its Component Withanone on Scopolamine-Induced Changes in the Brain and Brain-derived Cells. PLoS One 2011; 6(11):e27265.

Effect of Tribulus Terrestris Oral Feeding on Learning and Memory in Streptozotocin-diabetic Rats: Investigating the Role of lipid Peroxidation

* Roghani M. (Ph.D)[1]- Omid Malayeri S. (Medical Stu.)[2]- Malayeri S.O. (Dental Stu.)[3]

***Corresponding Address:** Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, IRAN

Email: mehjour@yahoo.com

Received: 28/Dec/2011 Accepted: 29/Oct/2012

Abstract

Introduction: Diabetes in long term is associated with learning and memory deficits. Given the Anti-diabetic and antioxidant activities of Tribulus terrestris (TT).

Objective: to evaluate the effect of oral administration of Tribulus terrestris on learning and memory in diabetic rats.

Materials and Methods: Thirty two Wistar rats were divided into control, TT-treated control, diabetic, and TT-treated diabetic groups. To evaluate their learning and memory, initial (IL) and step-through latencies (STL) were determined at the end of study using passive avoidance test and alternation behavior percentage was obtained using Y maze. Level of malondialdehyde in hippocampal homogenate was also measured at the end of the study.

Results: STL significantly decreased in diabetic group ($p<0.01$) and TT-treated diabetic group showed a significantly higher STL ($p<0.01$), compared to the diabetic counterparts. Alternation percentage was significantly lower in the diabetic group relative to the controls ($p<0.01$) and treated diabetic group did show a significant difference in comparison with the diabetic group ($p<0.05$). Diabetic rats also exhibited a significant increase in tissue level of malondialdehyde ($p<0.01$) and TT treatment significantly reduced MDA level ($p<0.01$) in the diabetic group.

Conclusion: TT treatment could enhance the capability of consolidation and recall in diabetic animals and could also improve spatial memory in them, partly via attenuation of lipid peroxidation in the hippocampus.

Key words: Diabetes Mellitus/ Learning/ lipid peroxidation /Memory /Tribulus

_____Journal of Guilan University of Medical Sciences, No: 85, Pages: 88-95

1. Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, IRAN
2. Student Research Committee, Shahed University, Tehran, IRAN
3. Islamic Azad University of Pharmaceutical Sciences, Tehran, IRAN