

بررسی اثر تجویز خوراکی و دراز مدت بخش هوایی علف چای بر یادگیری و حافظه در

موش صحرایی دیابتی با استفاده از آزمون اجتنابی غیر فعال

دکتر مهرداد روغنی^۱، دکتر توراندخت بلوچ نژاد مجرد^۲، دکتر فرشاد روغنی دهکردی^۳

۱- دانشیار فیزیولوژی- تهران، دانشگاه شاهد، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی (مؤلف مسئول) mehjour@yahoo.com

۲- دانشیار فیزیولوژی- تهران، دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشکده پزشکی

۳- استادیار قلب و عروق، شهر کرد، دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد، دانشکده پزشکی

چکیده

زمینه و اهداف: دیابت قندی بویژه نوع ۱ موجب بروز اختلال در روندهای مرتبط با یادگیری، حافظه و شناخت در جامعه انسانی و حیوانات آزمایشگاهی می‌گردد. با توجه به وجود شواهد متعدد مبنی بر اثر تقویت‌کننده علف چای بر حافظه و یادگیری، لذا اثر تجویز خوراکی و درازمدت بخش هوایی علف چای (*Hypericum perforatum*) بر یادگیری و حافظه در موشهای صحرایی دیابتی با استفاده از آزمون اجتنابی غیر فعال مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: ۴۸ رأس موش صحرایی نر نژاد ویستار به طور تصادفی به چهار گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با علف چای، دیابتی، و دیابتی تیمار شده با علف چای تقسیم‌بندی شدند. تیمار با علف چای به مدت ۱ الی ۲ ماه ادامه یافت. برای دیابتی نمودن موشها از استرپتوزوتوسین به فرم تک دوز و داخل صفاقی به میزان ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن حیوان استفاده گردید. میزان گلوکز سرم قبل از بررسی و در طی هفته‌های چهارم و هشتم پس از بررسی تعیین گردید. بعلاوه، برای بررسی حافظه و یادگیری حیوانات، میزان عملکرد از نظر تأخیر اولیه (*Initial Latency*) و تأخیر در حین عبور (*Step-through Latency*) در آزمون اجتنابی غیر فعال پس از گذشت یک و دو ماه تعیین گردید.

یافته‌ها: نتایج بدست آمده نشان داد که تجویز بخش هوایی علف چای با یک نسبت وزنی ۱/۱۵ به مدت یک الی دو ماه در موشهای گروههای کنترل و دیابتی تغییر معنی‌دار در میزان گلوکز سرم ایجاد نمی‌نماید. بعلاوه، در موشهای دیابتی و دیابتی تحت تیمار با علف چای فقط در پایان ماه دوم افزایش معنی‌دار در مورد تأخیر اولیه در مقایسه با گروه کنترل بدست آمد ($p < 0/05$). بعلاوه، از نظر تأخیر اولیه هیچگونه تفاوت معنی‌دار بین دو گروه دیابتی و دیابتی تحت تیمار مشاهده نگردید، که خود به مفهوم عدم تغییر توانایی موشها در کسب اطلاعات جدید در موشهای دیابتی تحت تیمار می‌باشد. از طرف دیگر، با اندازه‌گیری تأخیر در حین عبور مشخص شد که تیمار موشهای گروه کنترل با علف چای موجب افزایش معنی‌دار تأخیر در حین عبور در پایان ماههای اول ($p < 0/05$) و دوم ($p < 0/05$) در مقایسه با گروه کنترل می‌گردد. همچنین، کاهش تأخیر در حین عبور در موشهای دیابتی ($p < 0/05$) و افزایش آن ($p < 0/05$) در موشهای دیابتی تحت تیمار در پایان ماه دوم بخوبی مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: مصرف خوراکی و درازمدت بخش هوایی علف چای موجب افزایش توانایی حیوان برای ذخیره نمودن اطلاعات در انبارهای حافظه و افزایش قدرت به یادآوری اطلاعات انبار شده در حیوانات سالم و دیابتی شده می‌گردد.

کلید واژه‌ها: علف چای، یادگیری و حافظه، آزمون اجتنابی غیر فعال، دیابت قندی، استرپتوزوتوسین، موش صحرایی

وصول مقاله: ۸۴/۶/۱ اصلاح نهایی: ۸۵/۴/۲۱ پذیرش مقاله: ۸۵/۴/۳۱

مقدمه

بیماری دیابت قندی یکی از شایعترین بیماریهای سیستم غدد درون‌ریز بدن محسوب می‌شود که بر اساس پیش بینی بعمل آمده، شیوع آن در جامعه انسانی در آینده افزایش خواهد یافت (۱). کمبود و یا کاهش نسبی میزان انسولین در این بیماری بویژه دیابت قندی تیپ ۱ با عوارض متابولیکی حاد نظیر کتواسیدوز و اغمای هیپراسمولار و با یک اختلال متابولیک مزمن و عوارض نامطلوب در درازمدت نظیر انواع مختلف نوروپاتی (شامل منوروپاتی، پلی نوروپاتی، و نوروپاتی اوتونومیک)، رتینوپاتی، گرفتاری عروق کلیوی، ضایعات پوستی و اختلالات در سیستم قلب و گردش خون همراه می‌باشد (۲). نوروپاتی یکی از مهمترین مشکلات بالینی و یکی از علل مرگ و میر در بیماران مبتلا به دیابت قندی محسوب می‌گردد. بر اساس یافته‌های تحقیقاتی اخیر، ظهور حالت دیابت قندی با یکسری تغییرات ساختمانی و عملکردی در سیستم اعصاب مرکزی و محیطی (از جمله کاهش سرعت هدایت پیامهای عصبی، اختلال در روند رژنراسیون در اعصاب محیطی بدن و تغییرات مورفولوژیک در فیبرهای عصبی) همراه می‌باشد (۳). از طرف دیگر مشخص شده است که بروز حالت دیابت یکی از ریسک فاکتورهای مهم در ایجاد حالت دمانس پیری (Senile demetia) می‌باشد که خود از علائم ظاهر شده در بیماری آلزایمر محسوب می‌گردد (۴). هر چند تاکنون تحقیقات زیادی در خصوص ارتباط بین دیابت قندی و نوروپاتی محیطی به انجام رسیده است، ولی در مورد اثرات دیابت بر سیستم اعصاب مرکزی بویژه مغز از نظر ساختمانی و عملکردی (تغییرات رفتاری شامل

یادگیری و حافظه) اطلاعات بسیار کمی یافت می‌شود (۵).

بر اساس شواهد تحقیقاتی موجود، حالت دیابت قندی بویژه نوع ۱ موجب بروز اختلال در روندهای مرتبط با یادگیری، حافظه و شناخت در حیوانات مبتلا می‌گردد. در این خصوص یک ارتباط تنگاتنگ بین بروز دیابت قندی و ظهور نقائص در یادگیری و حافظه در موجودات آزمایشگاهی یافت می‌شود که البته مکانیسمهای مسئول بروز این اختلالات به خوبی مشخص نشده است، هر چند برای دو فرضیه میکروواسکولار و استرس اکسیداتیو ناشی از تشدید تشکیل رادیکالهای آزاد اکسیژن شواهد زیادی یافت می‌گردد (۶). بعلاوه، حالت دیابت از نظر ساختمانی موجب کاهش بارز تراکم نورونی در ناحیه شکنج دنداندار (Dentate) که نقش مهمی در روندهای حافظه و یادگیری فضایی ایفا می‌نماید می‌گردد (۴). همچنین، حالت دیابت قندی موجب کاهش بیان آنزیم نیتریک اکسید سنتاز نورونی که نقش مهمی در پلاستیسیته سیناپسی و روندهای یادگیری و حافظه ایفا می‌کند در ناحیه هیپوکامپ می‌گردد که این تا حدودی توجیه‌کننده بروز اختلالات در یادگیری، حافظه و تقویت دراز مدت (Long term potentiation) در حیوانات دیابتی می‌باشد (۷). همچنین کاهش بیان پروتئینهای گروه NCAM (Neural cell adhesion molecules) در نواحی مختلف مغز حیوانات دیابتی شامل هیپوکامپ، مخچه و قشر مغز می‌تواند برخی نقائص شناختی مرتبط با دیابت قندی را به خوبی توجیه نماید (۸).

با توجه به افزایش دانش بشری در مورد هتروژنیت این بیماری، نیاز برای یافتن ترکیبات مؤثر با عوارض جانبی کمتر در جلوگیری از درمان دیابت یا مشکلات

آزایمر و پارکینسون نیز اثبات شده است (۱۷). با توجه به این یافته‌ها، هدف پژوهش حاضر بررسی اثر تجویز خوراکی و درازمدت بخش هوایی علف چای بر یادگیری و حافظه در موشهای صحرایی دیابتی با استفاده از آزمون اجتنابی غیرفعال (Passive avoidance test) می‌باشد.

روش بررسی

در این مطالعه از ۴۸ رأس موش صحرایی نر سفید نژاد ویستار (انستیتو پاستور، تهران) در محدوده وزنی 40 ± 30 گرم در شروع بررسی استفاده شد. تمام حیوانات در دمای ۲۲-۲۰ درجه سانتی‌گراد در گروههای ۳ تا ۴ تایی در هر قفس قرار داده شدند. حیوانات آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای مخصوص موش (شرکت خوراک دام پارس، کرج) و یا غذای مخلوط شده با پودر بخش هوایی علف چای به نسبت مورد نظر (۱/۱۵) به مدت یک الی دو ماه دسترسی داشتند. به منظور حصول حالت سازش با محیط، تمامی آزمایشها پس از گذشت حداقل ۳-۲ هفته استقرار حیوانات در آزمایشگاه حیوانات دانشکده پزشکی شاهد به انجام رسید.

پس از خریداری و تأیید علمی، پودر بدست آمده از آسیاب نمودن بخش هوایی علف چای با یک نسبت وزنی ۱/۱۵ با غذای پودر شده و استاندارد موش مخلوط و مجدداً غذای Pelleted تولید گردید (۱۸). در این بررسی از آن دسته موشهای صحرایی نر استفاده شد که در شرایط طبیعی بدون برقراری حالت روزه‌داری میزان گلوکز سرم آنها کمتر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود. موشها به طور تصادفی به چهار گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با علف چای، دیابتی، و دیابتی تحت تیمار با علف چای تقسیم شدند. تیمار با علف چای به مدت ۸

ناشی از آن شدیداً احساس می‌گردد. گیاهان دارویی و مشتقات آنها اگرچه از دیر باز در درمان دیابت قندی و عوارض ناشی از آن مطرح بوده‌اند، ولی در مورد اثر بخشی قطعی بسیاری از آنها تاکنون شواهد تحقیقاتی و معتبر یافت نمی‌شود (۹). علف چای (*Hypericum perforatum*) از نظر بالینی بعنوان گیاه با خاصیت ضد افسردگی و بهبود دهنده برخی انواع بیماریهای عاطفی (Affective)، ضد اضطراب، دیورتیک، آنتی‌بیوتیک، ضد ویروس، ضدالتهای، ضد درد (۱۰)، هیپوکلسترولمیک در حیوانات دریافت‌کننده رژیم غذایی سرشار از چربی و با اثرات بهبود دهنده ترمیم زخم (۱۱) مطرح شده است. همچنین جدیداً مشخص شده است که گیاه علف چای دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانت و محافظت‌کننده در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از تشکیل رادیکالهای آزاد اکسیژن بوده و از اختلال حافظه القا شده بر اثر اعمال استرس در تستهای Morris water maze و Object recognition جلوگیری می‌نماید (۱۵-۱۲). در همین ارتباط همچنین مشخص شده است که تجویز دراز مدت این گیاه موجب بهبود عملکرد حیوان از نظر اعمال حافظه‌ای، در تستهای Elevated و Open field plus maze و بهبود حافظه حیوان در تست Morris water maze می‌گردد (۱۴-۱۳). بعلاوه، تجویز مکرر عصاره این گیاه و ماده مؤثره آن بنام هیپرفورین موجب افزایش acquisition و consolidation در آزمون اجتنابی غیر فعال (Passive avoidance) گردید (۱۶). از طرف دیگر اثر بخشی تجویز کوتاه مدت این گیاه بر عملکرد حافظه‌ای در یک تحقیق بر روی جامعه انسانی داوطلب و سالم مورد تأیید قرار نگرفته است (۱۵). اخیراً اثر نوروپروتکتیو این گیاه نیز در برخی مدل‌های بیماری

هفته ادامه یافت. برای دیابتی نمودن موشها از داروی استرپتوزوتوسین (STZ) به صورت تک دوز و داخل صفاقی به میزان ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم حل شده در محلول سالین فیزیولوژیک سرد استفاده شد. حجم محلول تزریقی به هر حیوان ۰/۵ میلی لیتر بود. اندازه گیری میزان گلوکز سرم توسط روش آنزیمی گلوکز اکسیداز (زیست شیمی) قبل از انجام کار و در طی هفته های چهارم و هشتم پس از بررسی به انجام رسید. روش کار به این صورت بود که پس از تهیه محلول آنزیمی گلوکز اکسیداز (شرکت زیست شیمی، تهران)، ۵۰ میکرولیتر سرم به ۵ میلی لیتر محلول آنزیمی اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری ۳۷ درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس میزان جذب نوری با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (اسپکترونیک ۲۰، آمریکا) در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد و غلظت گلوکز با توجه به میزان جذب نور در مورد نمونه استاندارد (غلظت گلوکز برابر با ۱۰۰ میلی گرم بر دسی لیتر) تعیین گردید.

آزمون رفتار اجتنابی (احترازی) غیر فعال (Passive avoidance test):

برای بررسی رفتار احترازی غیر فعال از یک دستگاه به ابعاد ۲۰×۸۰×۲۰ سانتی متر (شاتل باکس) دارای یک محفظه روشن (Safe side) و یک محفظه تاریک (Unsafe side) استفاده شد. از میله های فلزی موجود در کف محفظه تاریک برای شوک دادن به پای حیوان استفاده شد. برای اعمال تحریک به محفظه تاریک از دستگاه استیمولاتور خاص (بهبودپرداز، تهران) استفاده گردید. بدین منظور، تک تحریکی به شدت یک میلی آمپر و به مدت دو ثانیه اعمال گردید.

روش بررسی رفتار احترازی غیر فعال:

در این تحقیق روش بررسی رفتار احترازی غیر فعال در هفته های چهارم و هشتم پس از بررسی به شرح زیر بود (۸):

الف - Adaptation Period: در این مرحله هر حیوان برای دو روز متوالی قبل از شروع آزمایش حداقل به مدت ۵ دقیقه در داخل دستگاه قرار داده شد. ب - Acquisition Period: در این مرحله (روز سوم) برای شروع آزمایش حیوان را در محفظه Safe یا روشن قرار داده و به مدت دو دقیقه این محفظه تاریک نگه داشته می شد. در این مدت در گیلوتینی ارتباط دهنده محفظه روشن و تاریک کاملاً بسته بود. در انتهای دوره، لامپ محفظه Safe را روشن کرده و در گیلوتینی باز می گردید. به محض باز کردن در، کرنومتر را بکار انداخته و مدت زمانی که طول می کشید تا حیوان از محفظه روشن به محفظه تاریک برود یادداشت می گردید که این مدت زمان تحت عنوان Training Latency یا Initial Latency اطلاق گردید (ملاک برای ورود حیوان به محفظه تاریک عبور اندامهای حرکتی پشتی حیوان از در ارتباط دهنده دو محفظه بود). سپس در را پائین آورده و یک تک شوک به حیوان وارد می آمد. در پایان کار پس از ۱ دقیقه حیوان به قفس منتقل می گردید. در ارتباط با این مرحله، موشهای با تأخیر اولیه بیشتر از ۶۰ ثانیه از آزمایشات حذف گردیدند. ج - Retention trial: این مرحله ۲۴ ساعت پس از مرحله دوم در روز چهارم انجام پذیرفت. این مرحله مشابه مرحله قبل بوده که با قرار دادن حیوان در محفظه روشن شروع می شد با این تفاوت که زمانیکه حیوان به محفظه تاریک وارد می شد هیچگونه شوکی را دریافت نمی کرد. در این مرحله،

تحت تیمار در حد مختصر بیشتر از گروه دیابتی تیمار نشده بود. از سوی دیگر، تیمار گروه کنترل با علف چای در همین هفته‌ها تغییر معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل تیمار نشده ایجاد نمود.

با اندازه‌گیری میزان گلوکز سرم در هفته قبل بررسی و هفته‌های چهارم و هشتم پس از بررسی در تمام گروه‌ها مشخص شد که در هفته قبل از بررسی تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها یافت نمی‌شود. بعلاوه، در هفته‌های چهارم و هشتم میزان گلوکز سرم در دو گروه دیابتی و دیابتی تحت تیمار با علف چای بطور بسیار بارز و معنی‌دار ($p < 0.001$) بیشتر از گروه کنترل بود، در حالیکه گروه کنترل تحت تیمار تفاوت معنی‌دار را در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد. بعلاوه، تیمار با علف چای در گروه دیابتی در همین دوره‌های زمانی هیچگونه کاهش معنی‌دار در میزان گلوکز سرم در مقایسه با گروه دیابتی تیمار نشده بوجود نیاورد.

در این بررسی، میزان توانایی حیوان در کسب مهارت (Acquisition) و میزان توانایی در ذخیره نمودن و بیاد آوردن اطلاعات فرا گرفته شده (Retention and Recall) به ترتیب با اندازه‌گیری دو پارامتر تأخیر اولیه (Initial Latency) و تأخیر در حین عبور (Step-through Latency) با استفاده از آزمون اجتنابی غیر فعال در پایان ماه‌های اول و دوم پس از بررسی مورد اندازه‌گیری کمی قرار گرفت. در این ارتباط، از نظر تأخیر اولیه در پایان ماه اول (جدول ۱)، دو گروه دیابتی و دیابتی تحت تیمار با علف چای یک افزایش غیر معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند. همین افزایش غیر معنی‌دار به میزان کمتر در گروه کنترل تحت تیمار نیز مشاهده گردید ($F(3, 44) = 0.83$), در پایان ماه دوم نیز فقط دو گروه

(STL) Step-through latency اندازه‌گیری گردید. منظور از STL مدت زمانی است که حیوان در محفظه روشن باقی می‌ماند قبل از آنکه وارد محفظه تاریک شود.

تمام نتایج به صورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ بیان شده است. در مورد وزن و میزان گلوکز سرم حیوانات، برای مقایسه بین گروهی نتایج در هر هفته از آزمون One-way ANOVA و مقایسه نتایج هر گروه در زمانهای مختلف از آزمون Repeated measure ANOVA استفاده گردید. بعلاوه، از آزمون غیرپارامتریک Kruskal-Wallis One-way ANOVA برای آنالیز داده‌های تست رفتاری استفاده گردید. در تمام بررسی‌ها، $p < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

وزن حیوانات در یک هفته قبل از بررسی و هفته‌های چهارم و هشتم پس از بررسی در تمام گروه‌ها اندازه‌گیری شد (جدول ۱). نتایج بدست آمده نشان داد که میزان وزن در هفته قبل بررسی تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها نشان نمی‌دهد، در حالیکه در طی هفته‌های چهارم و هشتم تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها مشاهده گردید. در این خصوص، در هفته چهارم، دو گروه دیابتی و دیابتی تحت تیمار با علف چای یک کاهش بارز و معنی‌دار ($p < 0.001$ و $p < 0.01$) به ترتیب در حد ۲۵/۵٪ و ۱۹/۷٪ در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند و در هفته هشتم پس از بررسی نیز این کاهش در حد ۳۵/۶٪ و ۳۱/۸٪ ($p < 0.001$) مشاهده گردید. از طرف دیگر، تفاوت موجود بین دو گروه دیابتی و دیابتی تحت درمان با علف چای در هفته‌های چهارم و هشتم در حد معنی‌دار نبود، هر چند که میزان وزن در گروه دیابتی

(جدول ۲) که میزان تأخیر در حین عبور در گروه کنترل تحت تیمار بطور معنی‌دار ($p < 0.05$) بیشتر از گروه کنترل بوده، در حالیکه مقدار آن در گروه دیابتی درمان نشده بطور بارز و معنی‌دار کمتر می‌باشد ($p < 0.05$) که این خود مؤید نیاز به حداقل بیش از یک ماه برای بروز برخی تغییرات رفتاری شامل بروز نقائص در حافظه و یادگیری در موشهای صحرایی دیابتی می‌باشد. از طرف دیگر، این پارامتر در گروه دیابتی تحت تیمار با علف چای بطور بارز و معنی‌دار بیشتر از گروه دیابتی ($F(3, 44)=5.3, p=0.003, x^2=18.4$) بود.

دیابتی و دیابتی تحت تیمار یک افزایش معنی‌دار ($p < 0.05$) در تأخیر اولیه در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند (شکل ۲) ($F(3, 44)=2.82, p=0.04, x^2=33.1$). از نظر تأخیر در حین عبور در پایان ماه اول (جدول ۱) مشخص شد که این پارامتر در گروه کنترل تحت تیمار با علف چای بطور معنی‌دار ($p < 0.05$) بیشتر از گروه کنترل می‌باشد. ضمناً گروه دیابتی یک کاهش غیر معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل نشان داد. در مقایسه دو گروه دیابتی و دیابتی تحت تیمار با علف چای نیز معلوم گردید که یک تفاوت معنی‌دار ($p < 0.05$) بین این دو گروه وجود دارد ($F(3, 44)=3.27, p=0.02, x^2=13.7$). با بررسی نتایج در پایان ماه دوم مشخص شد

جدول ۱: اثر تجویز خوراکی بخش هوایی علف چای بر میزان وزن و گلوکز سرم در موشهای صحرایی کنترل و دیابتی

میزان گلوکز سرم (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)						وزن بدن (گرم)
هفته ۸	هفته ۴	هفته ۰ (قبل بررسی)	هفته ۸	هفته ۴	هفته ۰ (قبل بررسی)	
۱۲۳/۴ ± ۹/۷	۱۴۸/۵ ± ۱۰/۶	۱۳۹/۳ ± ۹/۲	۳۲۱/۶ ± ۹/۱	۳۰۹/۸ ± ۸/۳	۲۹۹/۲ ± ۹/۶	کنترل
۱۳۱/۱ ± ۱۰/۳	۱۵۰/۳ ± ۹/۹	۱۴۱/۴ ± ۱۰/۸	۳۲۹/۱ ± ۱۱/۴	۳۲۰/۶ ± ۹/۴	۳۱۴/۶ ± ۸/۲	کنترل+علف چای
۴۱۱/۳ ± ۱۳/۹**	۴۲۳/۳ ± ۱۸/۴**	۱۳۸/۴ ± ۱۱/۳	۲۰۷/۴ ± ۱۰/۷**	۲۳۰/۱ ± ۱۲/۶**	۲۹۱/۶ ± ۱۰/۳	دیابتی
۴۱۵/۸ ± ۱۱/۵**	۴۰۰/۶ ± ۱۲/۷**	۱۳۷/۶ ± ۷/۶	۲۱۹/۴ ± ۱۲/۶**	۲۴۸/۷ ± ۱۰/۳*	۳۱۷/۹ ± ۱۰/۸	دیابتی+علف چای

* $p < 0.01$ ، ** $p < 0.001$ (در مقایسه با گروه کنترل)

جدول ۲: میزان تأخیر اولیه و تأخیر در حین عبور با استفاده از آزمون اجتنابی غیر فعال

تأخیر در حین عبور		تأخیر اولیه		
ماه دوم	ماه اول	ماه دوم	ماه اول	
۳۷۱/۹ ± ۳۸/۱	۳۲۹/۸ ± ۳۵/۶	۲۳/۵ ± ۱۲/۴	۲۶/۴ ± ۱۲/۳	کنترل
۴۶۸/۱ ± ۲۷/۶×	۴۳۷/۹ ± ۴۲/۳×	۳۰/۸ ± ۱۸/۵	۳۶/۱ ± ۱۷/۹	کنترل + علف چای
۲۶۹/۸ ± ۳۵/۷×	۲۸۷/۶ ± ۳۰/۹	۵۸/۹ ± ۸/۴×	۴۱/۲ ± ۱۴/۲	دیابتی
۳۸۹/۳ ± ۴۰/۸#	۳۷۹/۶ ± ۳۳/۴#	۷۹/۷ ± ۱۹/۷×	۶۱/۳ ± ۲۲/۳	دیابتی + علف چای

* $p < 0.05$ (در مقایسه با گروه کنترل)، # $p < 0.05$ (در مقایسه با گروه دیابتی)

بحث

نتایج بدست آمده در این مطالعه نشان داد که تجویز خوراکی و دراز مدت این گیاه با یک نسبت وزنی ۱/۱۵ به مدت یک الی دو ماه در موشهای گروههای کنترل و دیابتی تغییر معنی‌دار در میزان گلوکز سرم ایجاد نمی‌نماید. بعلاوه، در موشهای دیابتی و دیابتی تحت تیمار با علف چای فقط در پایان ماه دوم افزایش معنی‌دار در مورد تأخیر اولیه در مقایسه با گروه کنترل بدست آمد. بعلاوه، از نظر تأخیر اولیه هیچگونه تفاوت معنی‌دار بین دو گروه دیابتی و دیابتی تحت تیمار مشاهده نگردید که خود به مفهوم عدم تغییر توانایی موشها در کسب اطلاعات جدید در موشهای دیابتی تحت تیمار می‌باشد. از طرف دیگر، در خصوص حفظ و به یادآوری اطلاعات (که با اندازه‌گیری تأخیر در حین عبور مشخص شد) تیمار موشهای گروه کنترل با علف چای موجب افزایش معنی‌دار تأخیر در حین عبور در پایان ماههای اول و دوم در مقایسه با گروه کنترل گردید. همچنین، کاهش تأخیر در حین عبور در موشهای دیابتی و افزایش آن در موشهای دیابتی تحت تیمار در پایان ماه دوم بخوبی مشاهده گردید.

بر اساس یافته‌های قبلی، بروز حالت دیابت قندی در موجودات آزمایشگاهی (نظیر موش صحرایی) و جامعه انسانی با اختلالاتی در روندهای شناختی و حافظه و یادگیری، آتروفی مغز، و افزایش احتمال ابتلا به دمانس همراه می‌باشد. هر چند که مکانیسم بروز این اختلالات در جامعه دیابتی به خوبی شناخته نشده است ولی مشخص شده است که دو ناحیه قشر مغز و هیپوکامپ که از نواحی اصلی مرتبط با این روندها محسوب می‌شوند به میزان زیاد بدنبال دیابتی شدن تحت تأثیر قرار می‌گیرند. در این ارتباط بروز دیابت قندی

موجب تشدید استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی در برخی نواحی مغزی شامل هیپوکامپ می‌گردد (۱۹ و ۲۰). از طرف دیگر، حالت دیابت قندی موجب کاهش سطح فاکتورهای رشد شبه انسولین (IGF) و فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF) در برخی نواحی مغز می‌گردد و با توجه به ضرورت وجود چنین فاکتورهایی برای کسب اطلاعات، ذخیره، و یادآوری اطلاعات (با اثر گذاری بر عملکرد سیناپس و انتقال سیناپسی)، لذا اختلالات شناختی و نظایر آن در این بیماری ظاهر می‌گردد (۲۱). بعلاوه، اختلال در سیستم کولینرژیک که مسئول فرآیندهای مهمی نظیر حافظه و تثبیت اطلاعات می‌باشد بدنبال دیابتی شدن موجودات آزمایشگاهی گزارش شده است. این اختلال در اصل بعلت بالا بودن سطح گلوکز خون در بیماری دیابت بوجود می‌آید که البته خود با تغییراتی در سطح تحرک و پویایی حیوان دیابتی همراه می‌باشد (۲۲). از نظر الکتروفیزیولوژی، بروز دیابت قندی موجب اختلال در روند تقویت درازمدت (Long-term potentiation) یا LTP و موجب تشدید روند دپرسیون دراز مدت (Long-term depression) در سطح سیناپسی می‌گردد که خود در سطح مولکولی بخوبی توجیه‌کننده اختلالات ایجاد شده در حافظه و یادگیری در ارتباط با این بیماری می‌باشد که بدین ترتیب دیابت قندی موجب تغییراتی در روند پلاستیسته سیناپسی می‌گردد (۲۳). همچنین نتایج تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که با دیابتی شدن موش (نوع ۱)، اختلالی در اثر انسولینومیمتیک (Insulinomimetic) پپتید C ایجاد می‌شود که این خود با اختلالات شناختی و تشدید روند آپوپتوز (Apoptosis) در برخی نواحی مغز نظیر هیپوکامپ همراه می‌باشد (۲۴). بعلاوه، موشهای دیابتی سطح

شده است که بروز دیابت قندی در موش کوچک آزمایشگاهی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین موجب افزایش استرس اکسیداتیو ناشی از تشدید تشکیل رادیکالهای فعال اکسیژن در برخی نواحی مغز به خصوص در دو ناحیه هیپوکامپ و قشر مغز که خود از نواحی اصلی یادگیری و حافظه محسوب می‌گردند می‌شود (۶) و درمان با عصاره علف چای موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و در نتیجه تخفیف دژنراسیون در برخی نواحی مغزی شامل قشر مغز و هیپوکامپ می‌گردد (۱۲). از طرف دیگر، هر چند در مورد ماده مؤثره علف چای با اثر بارز بر روندهای شناختی و حافظه و یادگیری توافق حاصل نشده است، ولی احتمال داده می‌شود که هیپرسیسین (hypericin) موجود در این گیاه با کاهش دادن جریانهای کلر فعال شده بر اثر ماده میانجی گابا موجب بهبود عملکرد حیوان در تستهای رفتاری مرتبط با حافظه و یادگیری می‌گردد (۱۳). بخشی دیگر از اثرات سودمند این گیاه در ارتباط با اعمال شناختی را می‌توان به محتوی بالای فلاونوئیدها در آن نسبت داد که در این خصوص برای فلاونوئید هیپرفورین با خاصیت مهارکنندگی جذب منوآمینها شواهد قانع کننده‌ای یافت می‌گردد. پدیده اخیر خود موجب بروز تغییرات در سطح برانگیختگی و توجه (Attention) در حیوان می‌گردد (۳۰-۲۸، ۱۳).

نتیجه‌گیری

مصرف خوراکی و دراز مدت بخش هوایی علف چای موجب افزایش توانایی حیوان برای ذخیره نمودن اطلاعات در انبارهای حافظه و افزایش قدرت به یادآوری اطلاعات انبار شده در حیوانات سالم و دیابتی شده، می‌گردد.

پائین‌تری از بیان ملکولهای پروتئینی سیناپتوفیزین، نوروپپتید Y و NCAM (Neural cell adhesion molecule) را نشان می‌دهند (۲۵). همچنین، بخشی از اختلالات رفتاری مشاهده در حیوانات دیابتی را می‌توان به کاهش بیان و فعالیت آنزیم نیتریک اکسید سنتاز نورونی (nNOS) نیز نسبت داد (۲۶). در بررسی حاضر مشخص شد که وجود حالت دیابت به مدت دو ماه موجب افزایش تأخیر اولیه در موشهای دیابتی می‌شود که این تا حدود کم دال بر، افزایش توانایی حیوان در کسب اطلاعات و مهارتهای جدید (Acquisition) و تا حدود زیاد معرف کاهش تحرک حیوان می‌باشد که این با نتایج تحقیق Baydas و همکاران (۲۰۰۳) مطابقت دارد، هر چند که مدت بررسی محققان اخیر کمتر از بررسی حاضر بوده است (۸). بعلاوه، محققان اخیر کاهش توانایی حیوانات دیابتی را در ارتباط با تثبیت و به یادآوری اطلاعات انبار شده پس از یک ماه گزارش نموده‌اند که همین نتیجه پس از دو ماه در بررسی حاضر نیز بدست آمد. بر اساس شواهد موجود، تغییرات حاصله در این تواناییها را می‌توان به تغییرات پلاستیسته سیناپسی در ناحیه هیپوکامپ و در نتیجه ایجاد اختلال در روند LTP نسبت داد. البته شایان ذکر است که هر چند این تغییرات بیشتر در تثبیت اطلاعات دخالت دارند ولی بر اساس شواهد تحقیقاتی جدید به میزان کمتر در فراگیری مهارتهای جدید و پیچیده نیز می‌توانند دخالت داشته باشند (۲۷).

در بررسی حاضر اثر سودمند مصرف خوراکی و مزمن بخش هوایی علف چای بر یادگیری و حافظه از نظر کسب اطلاعات جدید و حفظ و به یادآوری اطلاعات انبار شده در حیوانات دیابتی پس از دو ماه مورد تأیید قرار گرفت. در این خصوص قبلاً مشخص

References

1. American diabetes association: Clinical practice recommendation, screening for diabetes. *Diabetes Care* 1997; 20: 22-24.
2. Gleckman R, Mory J. Diabetes-related foot infection. *Journal of Contemporary Internal Medicine* 1994; 6: 57-62.
3. Galer BS, Gianas A, Jensen MP: Painful diabetic polyneuropathy: epidemiology, pain description, and quality of life. *Diabetes Res Clin Pract* 2000; 47: 123-128.
4. Jackson-Guilford J, Leander JD, Nisenbaum LK. The effect of streptozotocin-induced diabetes on cell proliferation in the rat dentate gyrus. *Neurosci Lett* 2000; 293: 91-94
5. Biessels GJ, Smale S, Duis SE, Kamal A, Gispen WH. The effect of gamma-linolenic acid-alpha-lipoic acid on functional deficits in the peripheral and central nervous system of streptozotocin-diabetic rats. *J Neurol Sci* 2001; 182: 99-106
6. 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.
7. 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.
8. 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.
9. Scartezzini P, Speroni E. Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. *J Ethnopharmacol* 2000; 71: 23-43.
10. Trofimiuk E, Walesiuk A, Braszko JJ. St John's wort (*Hypericum perforatum*) diminishes cognitive impairment caused by the chronic restraint stress in rats. *Pharmacol Res* 2005; 51: 239-346.
11. Zou Y, Lu Y, Wei D. Hypocholesterolemic effects of a flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L. in rats fed a cholesterol-rich diet. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 2462-2466.
12. El-Sherbiny DA, Khalifa AE, Attia AS, Eldenshary Eel-D. *Hypericum perforatum* extract demonstrates antioxidant properties against elevated rat brain oxidative status induced by amnestic dose of scopolamine. *Pharmacol Biochem Behav* 2003; 76: 525-533.
13. Widy-Tyszkiewicz E, Piechal A, Joniec I, Blecharz-Klin K. Long term administration of *Hypericum perforatum* improves spatial learning and memory in the water maze. *Biol Pharm Bull* 2002; 25: 1289-1294.
14. Klusa V, Germane S, Noldner M, Chatterjee SS. *Hypericum* extract and hyperforin: memory-enhancing properties in rodents. *Pharmacopsychiatry* 2001; 34: S61-69.
15. Ellis KA, Stough C, Vitetta L, Heinrich K, Nathan PJ. An investigation into the acute nootropic effects of *Hypericum perforatum* L. (St. John's Wort) in healthy human volunteers. *Behav Pharmacol* 2001; 12:173-182.
16. Khalifa AE. *Hypericum perforatum* as a nootropic drug: enhancement of retrieval memory of a passive avoidance conditioning paradigm in mice. *J Ethnopharmacol* 2001; 76: 49-57.
17. Silva BA, Dias AC, Ferreres F, Malva JO, Oliveira CR. Neuroprotective effect of *H. perforatum* extracts on beta-amyloid-induced neurotoxicity. *Neurotox Res* 2004; 6: 119-130.
18. Swanston-Flatt SK, Day C, Bailey CJ, Flatt PR. Evaluation of traditional plant treatments for diabetes: studies in streptozotocin diabetic mice. *Acta Diabetol Lat* 1989; 26: 51-55.
19. 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.
20. 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.

21. Nitta A, Murai R, Suzuki N, Ito H, Nomoto H, Katoh G and et al. Diabetic neuropathies in brain are induced by deficiency of BDNF. *Neurotoxicol Teratol* 2002; 24: 695-701.
22. Mayer G, Nitsch R, Hoyer S. Effects of changes in peripheral and cerebral glucose metabolism on locomotor activity, learning and memory in adult male rats. *Brain Res* 1990; 532: 95-100.
23. Artola A, Kamal A, Ramakers GM, Biessels GJ, Gispen WH. Diabetes mellitus concomitantly facilitates the induction of long-term depression and inhibits that of long-term potentiation in hippocampus. *Eur J Neurosci* 2005; 22: 169-178.
24. 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.
25. Zhang XM, Han S, Zhou L. The investigation of Syn and NPY expression in brain tissues of diabetic model rat induced by streptozotocin. *Shi Yan Sheng Wu Xue Bao* 2004; 37: 449-455.
26. 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.
27. Wioeniewski K, Fedosiewicz-wasiluk M, Holy Z Z, Car H, Grzeda E. Influence of NMDA, a potent agonist of glutamate receptors, on behavioral activity in 4-week streptozotocin-induced diabetic rats. *Pol J Pharmacol* 2003; 55, 345-351.
28. Kumar V, Singh PN, Muruganandam AV, Bhattacharya SK. Effect of Indian *Hypericum perforatum* Linn on animal models of cognitive dysfunction. *J Ethnopharmacol* 2000; 72:119-128.
29. Misane I, Ogren SO. Effects of *Hypericum perforatum* (St. John's wort) on passive avoidance in the rat: evaluation of potential neurochemical mechanisms underlying its antidepressant activity. *Pharmacopsychiatry* 2001; 34: S89-97.
30. Zou Y, Lu Y, Wei D. Antioxidant activity of a flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L in vitro. *J Agric Food Chem* 2004; 52: 5032-5039.