



بررسی تأثیر عصاره هیدروالکلی ریزوم گیاه سعد کوفی بر حافظه و یادگیری در رت‌های نر آلزایمری شده با استرپتوزوتوسین

سیما نصری^{الف*}، محسن ناصری^ب، مرتضی پیری^ج، فائقه محمودی نیا^د

^{الف} دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

^ب دانشیار مرکز تحقیقات کارآزمایی بالینی طب سنتی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

^ج استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اردبیل، ایران

^د کارشناس ارشد، گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: بیماری آلزایمر یکی از مهم‌ترین بیماری‌های تحلیل‌برنده عصبی است که به دنبال تولید رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو بروز می‌کند. مطالعات جدید نشان داده است که ترکیبات آنتی‌اکسیدانی اثر زیادی در تقویت حافظه و کنترل بیماری آلزایمر دارند. از آنجایی که گیاه سعد کوفی حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی است، بنابراین در این تحقیق اثرات عصاره هیدروالکلی ریزوم سعد کوفی بر سرعت یادگیری و بهبود حافظه در رت‌های آلزایمری مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق، با تزریق استرپتوزوتوسین به داخل بطن‌های جانبی مغز رت، مدل مناسبی از آلزایمر نوع اسپورادیک ایجاد شد. ۴۹ سر موش صحرایی نر به ۷ گروه آزمایشی تقسیم شدند: گروه کنترل، شام، آلزایمری، آلزایمری + درمان با عصاره (دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و سالم + درمان با عصاره (دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم). گروه‌های درمانی، عصاره با دوزهای مختلف را به مدت ۲۱ روز دریافت کردند. میزان یادگیری و حافظه فضایی موش‌ها به ترتیب با روش‌های آزمون احترازی غیرفعال و آزمون ماز Y شکل ارزیابی شد.

یافته‌ها: در میزان تأخیر اولیه بین گروه، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($p > 0.001$). ولی تفاوت معنی‌دار در زمان تأخیر در حین عبور بین گروه آلزایمری با بقیه گروه‌ها مشاهده شد ($p < 0.001$). در آزمون ماز Y شکل، تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها دیده نشد ($p > 0.001$).

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان می‌دهد که تزریق داخل بطن‌های مغزی استرپتوزوتوسین در رت‌ها، سبب کاهش حافظه و یادگیری می‌شود و درمان رت‌ها با عصاره سعد کوفی می‌تواند سبب تقویت توانایی نگهداری اطلاعات در انبار حافظه و به یادآوری آنها شود.

کلیدواژه‌ها: آلزایمر، استرپتوزوتوسین، سعد کوفی، حافظه و یادگیری، شاتل باکس، ماز Y شکل

تاریخ دریافت: خرداد ۹۶

تاریخ پذیرش: بهمن ۹۶

مقدمه:

یکی از هشت علت مرگ در افراد بالای ۶۵ سال شناخته شده

است (۲).

تزریق داخل بطن مغزی استرپتوزوتوسین با اختلالی

پیش‌رونده در حافظه و یادگیری، گلوکز مغزی و متابولیسم

انرژی مشخص می‌شود، این روش، نشانگر یک مدل آزمایشی

مناسب برای بیماری آلزایمر نوع تک‌گیر (اسپورادیک) است

(۳، ۴). کاهش انرژی در دسترس می‌تواند سبب اختلال در

بیماری آلزایمر، یک بیماری تحلیل‌برنده سیستم عصبی

مرکزی است که باعث زوال عقل می‌شود، منشاء این بیماری به

طور دقیق مشخص نیست، ولی تغییرات متعددی مانند

کوچک شدن مغز، از بین رفتن سلول‌های مغزی، ایجاد

پلاک‌های آمیلوئیدی و کلافه‌های نورفیبریلی در سلول مغزی

از مهم‌ترین علائم بیماری هستند (۱). بیماری آلزایمر به‌عنوان

در هند به عنوان تقویت کننده حافظه، ضد تب، خردکننده سنگ مئانه، پادزهر سم مار، طپش قلب، حالت قی، اسهال و از مخلوط آن با زنجبیل و عسل در ورم معده، اسهال و ناراحتی های روده و با دوز بالا برای از بین بردن انگل های روده استفاده درمانی به عمل می آید (۱۳).

سعد کوفی در حوزه های دارویی و داروشناسی کاربرد وسیعی دارد و ریزومها دارای اثرات: قابض، معرق، ادرارآور، ضد درد، ضد تشنج، معطر، ضد نفخ، ضد سرفه، قاعده آور، آرام بخش، اشتها آور، ضد کرم، مقوی و ضد باکتری هستند (۱۰).

باتوجه به تأثیر این گیاه در طب سنتی، هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر عصاره هیدروالکلی ریزوم گیاه سعد کوفی بر حافظه و یادگیری در موش های نر آلزایمری شده با استرپتوزوتوسین است.

مواد و روش ها:

حیوانات: در این پژوهش از موش های صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم پرورش یافته در حیوان خانه مرکز انستیتو پاستور کرج استفاده شد. موش ها در شرایط کنترل شده از نظر دما و نور با دسترسی آزاد به آب و غذا (خریداری شده از شرکت خوراک دام پارس، کرج) در اتاق حیوانات نگهداری شدند.

گروه بندی حیوانات: در مجموع، ۴۹ موش صحرایی سالم به صورت تصادفی به ۷ گروه ($n=7$) تقسیم شدند:

۱- گروه کنترل: گروه موش های سالم

۲- گروه شم: گروه جراحی شده، با تزریق محلول نرمال

سالین

۳- گروه ضایعه دیده (آلزایمری): جراحی شده، با تزریق

ماده استرپتوزوتوسین

تولید پروتئین های پیش ساز آمیلوئید و در نتیجه تجمع پلاک های بتا-آمیلوئید شود (۵). مطالعات نشان داده است که پپتید بتا-آمیلوئید از طریق افزایش استرس اکسیداتیو می تواند آپوپتوز نورون ها را افزایش دهد (۶).

همچنین مشخص شده است که تزریق درون بطنی STZ (streptozotocin) با کاهش فعالیت استیل کولین ترانسفراز و آسیب نورون های آوران کولینرژیک در هیپوکامپ و همچنین کاهش فعالیت مسیرهای کاتکول آمینرژیک موجب پیدایش اختلالاتی در یادگیری و ظرفیت حافظه است (۷، ۸).

بنابراین عوامل آنتی اکسیدان و تقویت کننده سیستم کولینرژیک می تواند در تخفیف بیماری آلزایمر مؤثر باشد (۶).

گیاه *Cyperus rotundus* L. از خانواده Cyperaceae، با نام های فارسی (عربی) اویار سلام و سعد کوفی، و نام فرانسوی souchet frond و نام انگلیسی nut grass است (۹).

سعد کوفی گیاه بومی هند است و گستردگی توزیع آن ناشی از توانایی آن در سازگار شدن با طیف گسترده ای از انواع خاک، ارتفاع، دما، PH خاک و رطوبت است (۱۰).

بیشتر نقاط ایران مانند البرز، تهران، مازندران، خراسان، بلوچستان، جنوب شیراز، اهواز و رامهرمز از جمله جاهایی هستند که این گیاه پراکندگی دارد (۱۱).

در بخش ریزوم سعد، گونه *Cyperus rotundus* یک اسانس مشخص شده که شامل پینن، مقدار کمی سینئول، سسکویی ترپن و یک الکل جدید به نام ایزوسی پرول است. به علاوه دارای چربی به میزان ۲/۷ درصد است و دارای یک ماده مومی خنثی، گلیسرول، اسید لینولنیک، اسید لینولئیک، اسید اولئیک، اسید میریستیک و اسید استئاریک است (۱۲).

امروزه در چین و هند از ریزوم های این گیاه در فقدان و بند آمدن بی موقع عادت ماهیانه و ناراحتی های رحم، بیماری های کبد و سوءهاضمه استفاده درمانی می شود. همچنین

استرپتوزوتوسین به داخل بطن‌های مغزی در محل مورد نظر نگهداری شد.

عصاره‌گیری به روش خیساندن (ماسراسیون) انجام شد، ریزوم‌ها در الکل اتیلیک ۷۰ درصد خیسانده شد و سپس با بن‌ماری تغلیظ و عصاره غلیظ شده حاصل با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آماده شد.

سپس با کمک سرنگ انسولینی به صورت داخل صفاقی به موش‌ها تزریق عصاره تا ۲۱ روز ادامه داشت. بعد از اتمام دوره تزریق داخل صفاقی آزمون‌های رفتاری بر روی موش‌ها انجام شد.

آزمون‌های رفتاری

آزمون رفتاری حافظه فضایی با ماز Y شکل:

دستگاه ماز Y شکل، یک جعبه سه بازویی سیاه رنگ ساخته شده از پلکسی گلاس است. سه بازو مشابه (A, B و C) و هر بازوی ماز به ترتیب دارای طول، ارتفاع و عرض ۴۰، ۳۰ و ۱۵ سانتی متری است. بازوها با زوایای مساوی (۱۲۰ درجه) نسبت به هم قرار می‌گرفتند. در مرکز ماز، بازوها به یک ناحیه مثلث متساوی‌الاضلاع شکلی راه می‌یابند.

برای انجام آزمون، هر موش در انتهای یکی از بازوهای ماز (مثلاً A) قرار می‌گرفت و اجازه داشت به صورت آزادانه در مدت ۸ دقیقه در بازوهای ماز حرکت کند. توالی ورود به هر بازوی ماز طی این مدت به صورت دستی ثبت می‌شد. اگر فرض کنیم موش ۱۷ بازو ماز را مشابه تناوب روبه‌رو حرکت کرده باشد (AC, ACB, ABA, CAC, AAC, BAC) این حیوان ۵ تا ۳ بازویی (تریاد) به اضافه دو بازو را رفته که از ۵ تریاد ۲ تا غیرتکراری است (تریادهای واضح‌تر). درصد رفتار تناوبی که میزان حافظه فضایی را در حیوان مشخص می‌کند، عبارت است از تعداد بازوهای تریادهای غیرتکراری

۴- گروه درمان: جراحی شده، با تزریق ماده استرپتوزوتوسین و دریافت عصاره هیدروالکلی ریزوم سعد کوفی در دو دوز متفاوت ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (دو زیرگروه)
۵- گروه سالم: گروه موش‌های سالم و دریافت‌کننده عصاره سعد کوفی در دو دوز متفاوت (دو گروه)

روش آزمایش

ابتدا موش توزین و سپس با تزریق داخل صفاقی، مخلوطی از ۱۰۰ mg/kg کتامین و ۵ mg/kg زایلازین بیهوش شد. آنگاه موش در دستگاه استریوتاکس قرار گرفت و توسط قطعه دهانی و میله‌های داخل گوشی بر روی میز جراحی ثابت شد (میله نگهدارنده دندان پیش ۳/۳ میلی متر و میله‌های نگهدارنده گوش به شکل مقارن قرار گرفت).

توسط پنبه الکلی موهای سر حیوان ضد عفونی شده و به وسیله کوتتر، یک برش طولی از میان دو چشم تا میان گوش‌ها ایجاد گشت. بافت‌های پیوندی روی جمجمه به وسیله پنبه آغشته به الکل زودوده شد و نقطه برگما مشخص شده، نشان‌گر دستگاه بر روی آن تنظیم شد. سپس با توجه به مختصات استخراج شده از اطلس Watson & Paxinos مختصات بطن‌های جانبی مغزی موقعیت جلویی-عقبی (AP=-0.8mm)، جانبی (ML=±1.6mm) و پشتی-شکمی (DV=-4.2mm) مشخص و با کمک دریل دو سوراخ در جمجمه ایجاد شد و کانول مخصوص تزریق به آرامی وارد بطن‌ها شد و سپس با سیمان پوشیده شد.

یک هفته پس از جراحی، جهت القای آلزایمر در گروه ضایعه دیده و گروه درمان، ماده استرپتوزوتوسین با دوز ۳ mg/kg در سالین حل شد و با سرنگ همیلتون و پمپ میکرواینجکشن به حجم ۱۰ میکرولیتر در هر طرف بطن تزریق شد. در انتهای تزریق، سرنگ ۵ دقیقه دیگر برای انتشار

فاصله زمانی بین قرار گرفتن در اتاق روشن و ورود به اتاق تاریک، اندازه‌گیری شد و به‌عنوان زمان تأخیر در حین عبور (STL) (حداکثر ۶۰ ثانیه) بیان شد.

آنالیز آماری

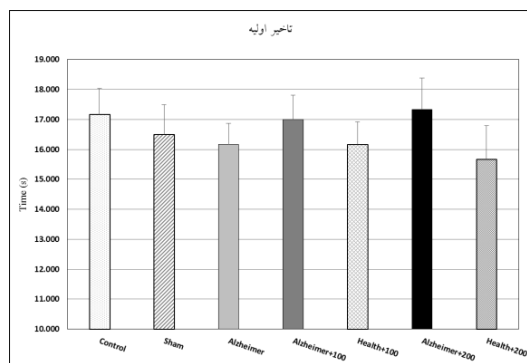
برای بررسی نتایج مربوط به آزمون‌های رفتاری با نرم‌افزار SPSS استفاده شد و تمامی نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار و آزمون واریانس یک‌طرفه (One-way Anova) و تست تکمیلی Tukey با شرط معنی داری ($p < 0.05$) بیان شده‌اند.

یافته‌ها:

اثر تزریق عصاره هیدروالکلی ریزوم سعد کوفی بر

یادگیری اجتنابی غیرفعال

اثر تزریق عصاره هیدروالکلی ریزوم سعد کوفی بر میزان تأخیر اولیه: بین میانگین تأخیر اولیه در گروه‌های کنترل، شام، آلزایمر، آلزایمر ۱۰۰ و دوز ۲۰۰ عصاره، سالم و دوز ۱۰۰ عصاره و سالم و دوز ۲۰۰ عصاره، اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (نمودار ۱).



نمودار ۱- زمان تأخیر اولیه در گروه‌ها در آزمون یادگیری اجتنابی غیرفعال ($n = 7$) بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود ندارد ($p > 0.5$).

اثر تزریق عصاره هیدروالکلی ریزوم سعد کوفی بر میزان تأخیر حین عبور: مقایسه داده‌ها نشان‌دهنده کاهش معنی‌داری

($2 \times 3 = 6$) تقسیم بر کل بازوهای تریادها ($5 \times 3 = 15$) منهای دو ($13 - 2 = 11$) و چون به صورت درصد بیان می‌شود، کل داده در عدد صد ضرب خواهد شد.

$$\text{درصد تناوب} = \frac{3 \times (\text{تعداد تریادهای تکراری})}{(3-2) \times (\text{تعداد کل تریادهای})} \times 100$$

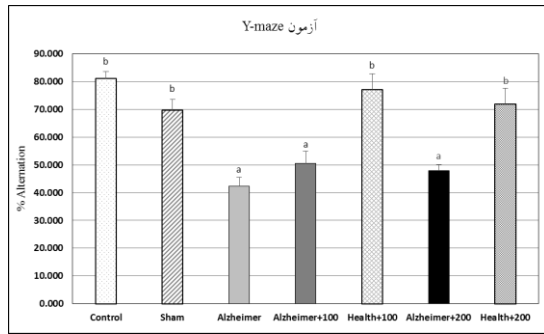
$46/15$ درصد = $100 \times (15-2) / 6$ = درصد حافظه فضایی لازم به ذکر است هر آزمون در هر حیوان فقط یک بار انجام شد.

آزمون رفتاری یادگیری اجتنابی غیرفعال:

پس از گذشت ۳ هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین به داخل بطن‌های مغزی، موش‌ها تحت مطالعه یادگیری اجتنابی غیرفعال قرار گرفتند. دستگاه یادگیری اجتنابی غیرفعال (Shuttle Box)، شامل دو اتاقک یکی تاریک و دیگری روشن است که توسط یک درب گیوتینی از هم جدا می‌شوند. این آزمون طی ۴ روز انجام شد. در اولین و دومین روزهای آزمون، هر موش در دستگاه قرار گرفت و برای عادت کردن به دستگاه ۵ دقیقه رها شد.

در روز سوم یک آزمون اکتسابی انجام شد. موش‌ها به‌صورت انفرادی در اتاق روشن گذاشته شدند. بعد از یک دوره تطابق (۲ دقیقه) درب گیوتینی باز شد و بعد از ورود موش به اتاق تاریک، درب بسته شد و یک شوک الکتریکی در حد دست و پا زدن به حیوان اعمال شد (۱ میلی‌آمپر، ۱ ثانیه، یک بار)، در این آزمون، تأخیر ابتدایی II و ورود به اتاق تاریک ثبت شده و موش‌ها با تأخیر اولیه بزرگ‌تر از ۶۰ ثانیه از مطالعه خارج شدند.

۲۴ ساعت بعد در مرحله یادگیری، هر موش برای ادامه آزمون در اتاق روشن قرار داده شد. موش در حالی که پشت حیوان به سمت درب گیوتین بود داخل اتاق روشن گذاشته و ۱۰ ثانیه بعد، درب گیوتینی بالا کشیده شد.



نمودار ۳- رفتار تناوبی در آزمون ماز Y

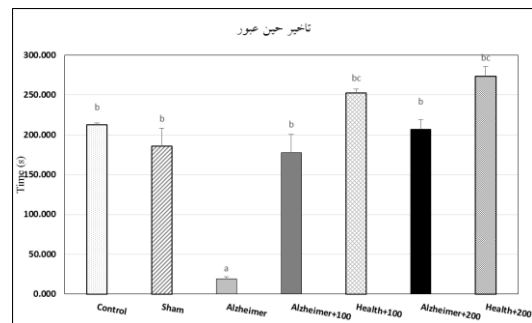
بحث:

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری در میزان تأخیر اولیه در بین گروه‌ها وجود نداشت. این مساله نشان‌دهنده آن است که تزریق داخل صفاقی عصاره سعد کوفی در موش‌های صحرائی نر بالغ قادر نیست قدرت کسب اطلاعات جدید را به وجود آورد. همچنین تأخیر در حین عبور که شاخصی از توانایی حیوان برای نگهداری اطلاعات در انبارهای حافظه و به یادآوری آنها است، مشخص کرد که تزریق داخل صفاقی عصاره در دوزهای بالا قادر به افزایش زمان تأخیر در حین عبور و در نتیجه افزایش قدرت یادآوری اطلاعات در موش‌های صحرائی تحت تیمار است.

حافظه فضایی موش نیز از طریق آزمون ماز Y شکل اندازه‌گیری شد و اثر تقویتی دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر حافظه فضایی نشان داده نشد.

آنالیز شیمیایی ریزوم‌های گیاه سعدکوفی نشان‌دهنده آن است که این ریشه حاوی فلاونوئیدها، ویتامین‌ها و کربوهیدرات‌هاست. فلاونوئیدها به‌عنوان ترکیباتی که دارای فعالیت در سیستم عصبی مرکزی هستند، شناخته شده‌اند (۱۴). فلاونوئیدها و دیگر ترکیبات پلی‌فنولی رادیکال‌های آزاد را از بین می‌برند و پراکسیداسیون لیپیدها را مهار می‌کنند (۱۵)، (۱۶).

در میزان تأخیر حین عبور در گروه آلزایمری نسبت به گروه کنترل است. اما درمان با دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم عصاره از کاهش تأخیر حین عبور در گروه آلزایمری به میزان معنی‌داری می‌کاهد.



نمودار ۲- زمان تأخیر حین عبور در گروه‌ها

در آزمون یادگیری اجتنابی غیرفعال ($n=7$) بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود دارد.

a: اختلاف با گروه کنترل ($p<0.001$)

b: اختلاف با گروه آلزایمر ($p<0.001$)

c: اختلاف با گروه کنترل ($p<0.05$)

اثر تزریق عصاره هیدروالکلی ریزوم سعد کوفی بر حافظه فضایی در آزمون ماز Y شکل: میانگین درصد رفتار تناوبی در گروه سالم + دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ عصاره نسبت به گروه کنترل تفاوت نداشته است. اما حافظه فضایی در گروه آلزایمر کاهش داشته است و در گروه‌های آلزایمر + دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ عصاره نسبت به گروه آلزایمری افزایش معنی‌داری در حافظه فضایی مشاهده نشد (نمودار ۳).

تأثیر عصاره هیدروالکلی ریزوم سعد کوفی بر حافظه فضایی موش‌های مدل آلزایمری در ماز Y ($n=7$):

بین گروه‌های آلزایمری و آلزایمری دریافت‌کننده عصاره،

تفاوت معنی‌داری وجود ندارد.

به علاوه، عصاره متانولیک آن از فعالیت آنزیم استیل کولین استراز که تجزیه کننده استیل کولین است، جلوگیری می کند (۲۱).

پس باتوجه به مهار آنزیم استیل کولین استراز، سطح استیل کولین در مغز افزایش یافته که می تواند موجب تقویت حافظه شود. به علاوه، سیستم دوپامینرژیک در مکانیسم های مغزی دخیل در تقویت و استحکام دخالت دارد (۲۲).

آزمایشات بر روی مدل های حیوانی نشان داده که افزایش دوپامین در یادگیری، نقش دارد که به موجب آن باعث افزایش LTP می شود (۲۳).

آگونست دوپامین باعث تحریک سنتز فاکتور نوروتروفین در آستروسیت ها می شود (۲۴). کاهش نوروتروفین ها یکی از علل آتروفی سلول های عصبی است (۲۵) عصاره سعد کوفی به صورت کاملاً محسوسی میزان دوپامین را بالا می برد (۲۶) که می توان نتیجه گرفت این سیستم نیز یکی از سیستم های احتمالی در تقویت حافظه است.

نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان می دهد که تزریق داخل بطن های مغزی استرپتوزوتوسین در مدل احترازی غیرفعال در موش ها، سبب کاهش معنی داری در حافظه و یادگیری شده است و همچنین یک نقص حافظه فضایی در مدل ماز Y شکل ایجاد کرده و درمان موش ها با عصاره سعد کوفی توانسته یادگیری را بهبود بخشد.

وجود تفاوت معنی دار در زمان تأخیر در حین عبور (STL) بین گروه های کنترل، شم، آلزایمری و گروه های درمان، نشان دهنده تأثیر مثبت عصاره هیدروالکلی ریزوم سعد کوفی بر یادآوری مطالب در بیماری آلزایمر است. نتایج این پژوهش مشابه نتایج پژوهش قبلی است (۲۷).

تزریق داخل صفاقی ریزوم سعد کوفی در دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ باعث افزایش توانایی نگهداری اطلاعات در انبار حافظه و

از آنجا که میزان مصرف اکسیژن در هیپوکامپ و استریاتوم مغز بیشتر است، تأثیر رادیکال های آزاد نیز در این مناطق بیشتر است، این مناطق نسبت به مناطق دیگر حساس تر هستند (۱۷). و به احتمال زیاد اثر حفاظتی پلی فنول های موجود در سعد کوفی وابسته به توانایی هیدروژن دهی آن ها است که می توانند یک اتم هیدروژن را از گروه آروماتیک به رادیکال های آزاد داده و آن را خنثی کنند و باعث پاکسازی رادیکال های آزاد می شوند و به طور کلی عصاره ریزوم های سعد کوفی سرشار از آنتی اکسیدان های طبیعی از جمله فلاونوئیدها و ویتامین ها است (۱۴) که می تواند اهمیت زیادی به عنوان عامل درمانی برای کاهش استرس اکسیداتیو در سیستم اعصاب مرکزی، همچنین در فرآیند پیری و بیماری های وابسته به رادیکال های آزاد، از جمله تحلیل عصبی داشته باشد (۱۵، ۱۶).

استیل کولین یکی از مهم ترین نوروترانسمیترهای آزاد شده از هیپوکامپ است که توسط جسم سلولی کولینرژیک در ناحیه سپتال میانی (Medial septal) آزاد می شود (۱۸).

تحقیقات نشان داده اند که فعال شدن گیرنده موسکارینی استیل کولین باعث فعال شدن نورون های هر می و افزایش رهایش گلوتامات در هیپوکامپ می شود. فعال شدن این گیرنده ها تغییر شکل سیناپسی و تقویت درازمدت سیناپسی را در نواحی مختلف مغز تسهیل می کند (۱۹).

استیل کولین استراز (AChE) آنزیمی است که هیدرولیز سریع استیل کولین در سیستم عصبی محیطی و مرکزی را به عهده دارد. این آنزیم به نوعی در بیماری آلزایمر و بیماری های مشابهی که منجر به فراموشی می شوند، دخالت دارد و موجب افزایش سنتز و رسوب پروتئین بتا-آمیلوئید در سلول های مغزی می شود (۲۰).

یک آنتی آنزیم استیل کولین استراز توسط کروماتوگرافی و کریستالیزیشن از گیاه سعدکوفی استخراج شده است و

یادآوری آن‌ها در حیوانات در آزمون اجتنابی غیرفعال می‌شود. آنتی‌اکسیدانی (فلاونوئیدها) و آنتی‌استیل کولین استرازی (ترین‌ها) موجود در عصاره اعمال می‌شود. احتمال بخشی از اثرات سودمند این ماده از طریق مواد

References:

1. Squir LR, Kandle ER. Memory; from mind to molecules. New York: Scientific American Library; 2000.
2. Mayeux R. Epidemiology of neurodegeneration. *Annu Rev Neurosci*; 2003. 26: 81-104.
3. Andallu B, Radhika B. Hypoglycemic, diuretic and hypocholesterolemic effect of winter cherry (*Withania somnifera*, Dunal) root. *Indian J Exp Biol*. 2000; 38: 607-609.
4. Labak M, Foniok T, Kirk D, Rushforth D, Tomanek B, Jasiński A, Grieb P. Metabolic changes in rat brain following intracerebroventricular injections of streptozotocin: a model of sporadic Alzheimer's disease. In *Brain Edema XIV 2010* (pp. 177-181). Springer, Vienna.
5. Hoyer S, Lee SK, Löffler T, Schliebs R. Inhibition of the neuronal insulin receptor An in vivo model for sporadic Alzheimer disease?. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2000 Dec;920(1):256-8.
6. Barkats M, Millecamps S, Abrioux P, Geoffroy MC, Mallet J. Overexpression of glutathione peroxidase increases the resistance of neuronal cells to A β -mediated neurotoxicity. *Journal of neurochemistry*. 2000 Oct;75(4):1438-46.
7. Hoyer S, Lannert H. Long-term effects of corticosterone on behavior, oxidative and energy metabolism of parietotemporal cerebral cortex and hippocampus of rats: comparison to intracerebroventricular streptozotocin. *Journal of Neural Transmission*. 2008 Sep 1;115(9):1241.
8. Ishrat T, Khan MB, Hoda MN, Yousuf S, Ahmad M, Ansari MA, Ahmad AS, Islam F. Coenzyme Q10 modulates cognitive impairment against intracerebroventricular injection of streptozotocin in rats. *Behavioural brain research*. 2006 Jul 15;171(1):9-16.
9. Mozaffarian V. A dictionary of Iranian plant names. Tehran :Farhange Moaser Publication; 1996. p:147.
10. Sivapalan SR. Medicinal uses and pharmacological activities of *Cyperus rotundus* Linn-A Review. *International Journal of Scientific and Research Publications*. 2013 May;3(5):1-8.
11. Karimi H. A dictionary of Iran`s vegetations (plants). Tehran: Moalef Publication; 2002. p:106.
12. Rabiei Z, Hojjati M, Rafieian-Kopaeia M, Alibabaei Z. Effect of *Cyperus rotundus* tubers ethanolic extract on learning and memory in animal model of Alzheimer. *Biomedicine & Aging Pathology*. 2013 Oct 1;3(4):185-91.
13. Soltani A. Encyclopedia traditional medicine(medicinal plants). Tehran: Arjomand Publication; 2005. Vol.2, p:447.
14. Shivakumar SI, Suresh HM, Hallikeri CS, Hatapakki BC, Handiganur JS, Sankh K, Shivakumar B. Anticonvulsant effect of *Cyperus rotundus* Linn rhizomes in rats. *Journal of Natural Remedies*. 2009 Jun 1;9(2):192-6.
15. Nagulendran KR, Velavan S, Mahesh R, Begum VH. In vitro antioxidant activity and total polyphenolic content of *Cyperus rotundus* rhizomes. *Journal of Chemistry*. 2007;4(3):440-9.
16. Soumaya KJ, Dhekra M, Fadwa C, Zied G, Ilef L, Kamel G, Leila CG. Pharmacological, antioxidant, genotoxic studies and modulation of rat splenocyte functions by *Cyperus rotundus* extracts. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2013 Dec;13(1):28.
17. Emami M, Hosseini A, Saeedi A, Golbidi D, Reisi P, Alaei H. Effect of red grape juice on learning and passive avoidance memory in rats. *J Isfahan Med Sch*. 2010 Jan 1;28(104):1-7.
18. Favoni Mendes LA, Menescal-de-Oliveira L. Role of cholinergic, opiodergic and GABAergic neurotransmission of the dorsal hippocampus in the modulation of nociception in guinea pigs. *Life Sci*. 2008; 644-650
19. Hasselmo ME. Neuromodulation: acetylcholine and memory consolidation. *Trends in Cognitive Sciences*. 1999 Sep 1;3(9):351-9.

20. Sharma R, Gupta R. Cyperus rotundus extract inhibits acetylcholinesterase activity from animal and plants as well as inhibits germination and seedling growth in wheat and tomato. *Life Sciences*. 2007 May 30;80(24-25):2389-92.
21. Mehrani HA, Small D. Effects of nicotinic receptors agonist and antagonist on Acetylcholinesterase exproition in SHSY5y cells. *Kowsar Medical Journal*, 2005; 10(2): 79-88.
22. Carlson NR. *Physiology of behavior*. Boston: Allyn & Bacon; 1986.
23. Lisman JE, Grace AA. The hippocampal-VTA loop: controlling the entry of information into long-term memory. *Neuron*. 2005 Jun 2;46(5):703-13.
24. Ohta K, Kuno S, Mizuta I, et al. Effects of dopamine agonists bromocriptine, Pergolide, cabergoline, and SKF-38393 on GDNF, NGF, and BDNF synthesis in cultured mouse astrocytes. *Life Sci*. 2003; 73: 617-626.
25. Smith MA. *International review of Neurobiology*. Acad Press. 1998; 42: 1-43
26. Zhou ZL, Liu YH. Study on antidepressant effect and mechanism by Cyperus rotundus extracts. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae*. 2012;18(7):191-93.
27. Germezgoli S, Nasri S. evaluating the root extract of Cyperus rotundus L. on learning and memory in male rats. *Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences*. 2015 Jan 15;22(6):34-43.