مقاله پژوهشی

بررسی اثر تجویز خوراکی و درازمدت ریشه بوزیدان بر یادگیری و حافظه موش صحرایی دیابتی شده با استفاده از آزمون اجتنابی غیر فعال

دکتر مهرداد روغنی *، دکتر توراندخت بلوچ نژاد مجرد**، دکتر محسن خلیلی*، سیده فاطمه مهدوی سلیمی***

دریافت : ۸۴/۵/۲۶ ، پذیرش : ۸۴/۱۲/۴

چکیده:

مقدمه و هدف: دیابت قندی بویژه نوع ۱ موجب بروز اختلال در روندهای مرتبط با یادگیری، حافظه و شناخت در جامعه انسانی و حیوانات آزمایشگاهی می گردد. با توجه به وجود شواهد متعدد مبنی بر اثر ضد دیابتی بوزیدان و اثر تقویت کننده مصرف آن بر حافظه و سلامت روان، اثر تجویز خوراکی و درازمدت ریشه بوزیدان (Withania somnifera) بر یادگیری و حافظه در موشهای صحرایی دیابتی با استفاده از آزمون اجتنابی غیرفعال مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار: برای این منظور در یک مطالعه تجربی موشهای صحرایی نر نژاد ویستار به طور تصادفی به چهار گروه کنترل, کنترل تحت تیمار با بوزیدان، دیابتی، و دیابتی تیمار شده با بوزیدان تقسیم بندی شدند. تیمار با بوزیدان به مدت ۱ الی ۲ ماه ادامه یافت. برای دیابتی نمودن موشها از استرپتوزوتوسین به فرم تک دوز و داخل صفاقی به میزان ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن حیوان استفاده گردید. میزان گلوکز سرم قبل از بررسی و در طی هفته های 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.

نتایج: تجویز ریشه بوزیدان با یک نسبت وزنی۱/۱۵ به مدت یک الی دو ماه در موشهای گروههای کنترل و دیابتی تغییر معنی دار در میزان گلوکز سرم ایجاد ننمود. بعلاوه، در موشهای دیابتی و دیابتی تحت تیمار با بوزیدان فقط در پایان ماه دوم افزایش معنی دار در مورد تأخیر اولیه در مقایسه با گروه کنترل بدست آمد($p<۰/۰۵$). بعلاوه، از نظر تأخیر اولیه هیچگونه تفاوت معنی دار 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 می باشد. از طرف دیگر، با اندازه گیری تأخیر در حین عبور مشخص شد که تیمار موشهای گروه کنترل با ریشه بوزیدان موجب افزایش معنی دار تأخیر در حین عبور در پایان ماههای اول ($p<۰/۰۱$) و دوم ($p<۰/۰۵$) در مقایسه با گروه کنترل می گردد. همچنین، کاهش تأخیر در حین عبور در موشهای دیابتی ($p<۰/۰۵$) و افزایش آن ($p<۰/۰۵$) در موشهای دیابتی تحت تیمار در پایان ماه دوم بخوبی مشاهده گردید.

نتیجه نهایی: مصرف خوراکی و درازمدت ریشه بوزیدان موجب افزایش بارز توانایی در حفظ و به یادآوری اطلاعات انبار شده در حیوانات نرمال و دیابتی شده می گردد.

کلید واژه ها : آزمون اجتنابی غیرفعال / استرپتوزوتوسین / بوزیدان / حافظه / دیابت شیرین / موش / یادگیری

مقدمه :

بیماری دیابت قندی یکی از شایعترین بیماریهای سیستم غدد درون‌ریز بدن محسوب می شود 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

* دانشیار گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد (mehjour@yahoo.com)

** دانشیار گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایران

*** دانشجوی رشته پزشکی دانشگاه شاهد

Archive of SID

www.SID.ir

عوارض متابولیکی حاد نظیر کتواسیدوز و اغمای هیپراسمولار و با یک اختلال متابولیک مزمن و عوارض نامطلوب در درازمدت نظیر انواع مختلف نوروپاتی (شامل منونوروپاتی، 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 میتلا به دیابت قندی محسوب می گردد. بر اساس یافته های 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 می باشد (۳). از طرف دیگر مشخص شده است که بروز حالت دیابت یکی از ریسک فاکتورهای مهم در ایجاد حالت دمانس پیری(Senile demetia) می باشد که خود از علائم ظاهر شده در بیماری آلزایمر محسوب می گردد(۴). هرچند تاکنون تحقیقات زیادی در خصوص ارتباط فیمابین 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 می شود(۵).

براساس شواهد تحقیقاتی موجود، حالت دیابت قندی بویژه نوع ۱ موجب بروز اختلال در روندهای مرتبط با یادگیری، حافظه و شناخت در حیوانات مبتلا می گردد. در این خصوص یک ارتباط تنگاتنگ بین بروز دیابت قندی و ظهور نقائص در یادگیری و حافظه در موجودات آزمایشگاهی یافت می شود که البته مکانیسمهای مسئول بروز این اختلالات به خوبی مشخص نشده است، هر چند برای دو فرضیه میکرووواسکولار و استرس اکسیداتیو ناشی از تشدید تشکیل رادیکالهای آزاد اکسیژن شواهد زیادی یافت می گردد (۶). بعلاوه، حالت دیابت از نظر ساختمانی موجب کاهش بارز تراکم نورونی در ناحیه شکنج دندانه دار (Dentate) که نقش مهمی در روندهای حافظه و یادگیری فضایی ایفا می نماید می گردد (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 می کند در ناحیه هیپوکامپ می گردد که این تا حدودی توجیه کننده بروز اختلالات در یادگیری، حافظه، و تقویت دراز مدت (LTP; Long term potentiation) در حیوانات دیابتی می باشد (۷). .همچنین کاهش بیان پروتئینهای گروه NCAM (Neural cell adhesion molecules) در نواحی مختلف مغز حیوانات دیابتی شامل هیپوکامپ، مخچه، و قشر مغز می تواند برخی نقائص شناختی مرتبط با دیابت قندی را به خوبی توجیه نماید (۸).

باتوجه به افزایش دانش بشری در مورد هتروژنیته این بیماری، نیاز برای یافتن ترکیبات مؤثر با عوارض جانبی کمتر در جلوگیری از یا درمان دیابت یا مشکلات ناشی از آن شدیداً احساس می‌گردد. گیاهان دارویی و مشتقات آنها اگر چه از دیر باز در درمان دیابت قندی و عوارض ناشی از آن مطرح بوده اند، ولی در مورد اثر بخشی قطعی بسیاری از آنها تاکنون شواهد تحقیقاتی و معتبر یافت نمی شود(۹). در این خصوص، بوزیدان (Withania somnifera) یک گیاه با خواص دارویی مهم در طب سنتی دردنیا محسوب می گردد (۱۰). از نظر تاریخی، این گیاه دارای خواص افزایش دهنده میل جنسی ، برقرار کننده عملکرد طبیعی کبد، ضدالتهاب، و تخفیف دهنده ترشحات مخاطی بوده و در طی سالیان اخیر کاربرد آن در درمان و یا بهبودی برانشیت، آسم، زخم، لاغری مفرط، بی خوابی، زوال عقل در سنین بالا، دیس کینزی (Dyskinesia) و سکته مغزی مورد تائید قرار گرفته است (۱۱). بعلاوه نتایج تحقیقات بالینی و آزمایشگاهی بر روی نمونه های حیوانی نشان می دهد که این گیاه در مورد اضطراب و بیماریهای شناختی و برخی اختلالات عصبی نظیر بیماری پارکینسون می تواند سودمند باشد (۱۲). همچنین جدیداً استفاده از این گیاه به عنوان یک داروی جانبی در ارتباط با شیمی درمانی و رادیوتراپی در بیماران سرطانی مطرح شده است (۱۳). از طرف دیگر، بوزیدان به عنوان یک آداپتوژن (Adaptogen) برای بیماران مبتلا به خستگی مفرط با منشأ عصبی (Nervous exhaustion)، و ناتوانیهای ناشی از استرس فیزیکی و روانی کاربرد دارد و دارای خاصیت محرک سیستم ایمنی در بیماران با کاهش شدید تعداد گلبول سفید می باشد (۱۴). لذا با توجه به اینکه قبلاً اثر هیپوگلیسمیک، دیورتیک، و هیپوکلسترولمیک تجویز خوراکی ریشه گیاه بوزیدان درافراد مبتلا به دیابت قندی نوع ۲ مورد تأئید قرار گرفته است و از نظر بالینی عارضه جانبی خاص بر اثر مصرف آن مشاهده نشده است (۱۵) و

Archive of SID

www.SID.ir

همالاتا و همکاران اثر هیپوگلیسمیک میوه برخی گیاهـان خانواده سولاناسه (Solanaceae) که بوزیـدان نیـز در ایـن گروه قرار می گیرد را در مدل تجربی دیابت قندی نـوع ۱ القا شده توسط استرپتوزوتوسین در موش صحرایی نـشان داده اند (۱۶) ، این مطالعـه بـا هـدف تعیـین اثـر تجـویز خوراکی و درازمدت ریشه بوزیدان بر یادگیری و حافظه در موشهای صحرایی دیـابتی بـا اسـتفاده از آزمـون اجتنـابی غیرفعال (Passive avoidance test) انجام گردید.

روش کار:

در این مطالعه تجربی از ۴۸ سـر مـوش صـحرایی نـر سفید نژاد ویستار (انـستیتو پاسـتور، تهـران) در محـدوده وزنی ۳۰ ± ۳۰۵ گرم در شروع بررسی استفاده شد. تمـام حیوان ها در دمای ۲ ± ۲۱ درجه سانتیگراد در گروههـای ۳ تا ۴ تایی در هر قفس قرار داده شدند. حیوان ها آزادانـه به آب لوله کشی و غذای مخصوص موش (شرکت خـوراک دام پارس، کرج) و یا غذای مخلـوط شـده بـا پـودر ریـشه بوزیدان به نسبت مورد نظر (۱/۱۵) به مـدت یـک الـی دو ماه دسترسی داشتند. به منظور حصول حالـت سـازش بـا محیط، تمامی آزمایش ها پس از گذشت حداقل دو هفتـه استقرار حیوانات در آزمایشگاه حیوانات دانـشکده پزشـکی به انجام رسید.

پس از خریداری و تأئید علمی، پودر بدست آمـده از آسیاب نمودن ریشه بوزیدان با یک نسبت وزنـی ۱/۱۵ بـا غذای پودر شده و استاندارد موش مخلوط و مجدداً غـذای پلاته (Pelleted) تولید گردید (۱۷). در این بررسـی از آن دسته موش های صحرایی نر استفاده شـد کـه در شـرایط طبیعی بدون برقراری حالت روزه داری میزان گلوکز سـرم آنها کمتر از ۲۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر بود. موش ها بـه طور تصادفی به چهـار گـروه کنتـرل (۱۴)، کنتـرل تحـت تیماربا بوزیدان (۸)، دیابتی (۱۴)، و دیابتی تحت تیمار بـا بوزیدان (۱۲) تقسیم شدند. تیمار با بوزیـدان بـه مـدت ۸ هفته ادامه یافت. برای دیابتی نمـودن مـوش هـا از داروی استرپتوزوتوسـین (STZ) بـه صـورت تـک دوز و داخـل صفاقی به میزان ۶۰ میلی گرم بر کیلـوگرم حـل شـده در محلول سالین فیزیولوژیک سرد استفاده شد. حجم محلول تزریقی به هر حیوان ۵/. میلی‌لیتر بود. خونگیری از شـبکه رترواوربیتال در تحت شرایط بیهوشی نسبی در حضور اتـر به انجام رسید. اندازه‌گیری میزان گلوکز سرم توسـط روش آنزیمی گلوکز اکسیداز (زیست شیمی) قبل از انجام کار و در طی هفته های چهارم و هشتم پس از بررسی به انجـام رسید. روش کار به این صورت بود که پس از تهیه محلـول 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 جـذب نـوری بـا اسـتفاده از دسـتگاه اسپکتروفتومتر (اسپکترونیک ۲۰، آمریکـا) در طـول مـوج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد و غلظت گلوکز با توجه بـه میـزان جذب نور در مورد نمونه استاندارد (غلظت گلوکز برابـر بـا ۱۰۰ میلی گرم بر دسی لیتر) تعیین گردید.

آزمون رفتار اجتنابی(احترازی) غیرفعال(Passive avoidance test)

برای بررسی رفتـار احتـرازی غیـر فعـال از یـک دسـتگاه بـه ابعـاد ۲۰×۸۰×۲۰ سانتی متر (شاتل باکس) دارای یک محفظه روشن (Safe side) و یک محفظه تاریک (Unsafe side) استفاده شد. میله‌های فلزی موجود در کف محفظـه تاریـک بـرای شوک دادن به پای حیوان‌استفاده شد. برای اعمال تحریک بـــه محفظـــه تاریـــک از دســـتگاه اســـتیمولاتور خـــاص (بهبودپرداز، تهران) اسـتفاده گردیـد. بـدین منظـور، تـک تحریکی به شدت یک میلی آمپر و به مدت دو ثانیه اعمال گردید.

روش بررسی رفتار احترازی غیر فعال : در این مطالعـه روش بررسی رفتار احترازی غیر فعـال در هفتـه هـای چهـارم و هشتم پس از بررسی به شرح زیر بود (۸):

الف - مرحلـه سـازش (Adaptation): در ایـن مرحلـه هـر حیوان برای دو روز متوالی قبل از شروع آزمـایش حـداقل به مدت ۵ دقیقه در داخـل دسـتگاه قـرار داده شـد. ب - مرحله اکتساب (Acquisition): در این مرحله (روز سـوم) برای شروع آزمایش حیوان را در محفظـه Safe یـا روشـن قرار داده و به مـدت دو دقیقـه ایـن محفظـه تاریـک نگـه داشته می‌شد. در این مـدت در گیلـوتینی ارتبـاط دهنـده محفظه روشن و تاریک کاملاً بـسته بـود. در انتهـای دوره، لامـپ محفظـه Safe را روشـن کـرده و در گیلـوتینی بـاز می‌گردید. به‌محض باز کردن در، کرنومتر را بکار انداخته و مدت زمانی که طول می‌کشید تا حیوان ازمحفظـه روشـن به محفظه تاریک برود یادداشت می‌گردید کـه ایـن مـدت زمان تحت عنوان تاخیر اولیه یا IL اطلاق گردیـد (مـلاک برای ورودحیوان به محفظه تاریک عبور اندامهای حرکتـی پشتی حیوان از در ارتباط دهنده دو محفظه بـود). سـپس در را پائین آورده و یک تک شوک به حیوان وارد می آمد.

Archive of SID

www.SID.ir

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 - مرحله آزمایش نگه داری اطلاعات (Retention) : 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 می‌شد با این تفاوت که زمانیکه حیوان به محفظه تاریک وارد می‌شد هیچ گونه شوکی را دریافت نمی‌کرد. در این مرحله، تاخیر در حین عبور یا STL اندازه‌گیری گردید. منظور از STL مدت زمانی است که حیوان در محفظه روشن باقی می‌ماند قبل از آنکه وارد محفظه تاریک شود.

آنالیز آماری : تمام نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار 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 برای آنالیز داده های تست رفتاری استفاده گردید. در تمام بررسیها، $p<۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج :

وزن حیوانات در هفته قبل بررسی و هفته های چهارم و هشتم پس از بررسی در تمام گروهها اندازه گیری شد. نتایج بدست آمده نشان داد که میزان وزن در هفته قبل بررسی تفاوت معنی دار بین گروهها نشان نمی دهد، درحالیکه در طی هفته های چهارم و هشتم تفاوت معنی دار بین گروه ها مشاهده گردید. در این خصوص، در هفته چهارم، دو گروه دیابتی و دیابتی تحت تیمار با بوزیدان یک کاهش بارز و معنی دار ($p<۰/۰۰۱$ و $p<۰/۰۵$) به ترتیب در حد ۲۵/۷٪ و ۱۳/۷٪ در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند و در هفته هشتم پس از بررسی نیز این کاهش در حد ۳۵/۵٪ و ۲۲/۷٪ ($p<۰/۰۰۱$) مشاهده گردید. از طرف دیگر، تفاوت موجود بین دو گروه دیابتی و دیابتی تحت درمان با بوزیدان در هفته های چهارم و هشتم در حد معنی دار نبود، هرچند که میزان وزن در گروه دیابتی تحت تیمار بیشتر از گروه دیابتی تیمار نشده بود. از سوی دیگر، تیمار گروه کنترل با بوزیدان در همین هفته ها تغییر معنی دار درمقایسه با گروه کنترل تیمار نشده ایجاد ننمود.

با اندازه گیری میزان گلوکز سرم در هفته قبل بررسی و هفته های چهارم و هشتم پس از بررسی در تمام گروهها مشخص شد که در هفته قبل از بررسی تفاوت معنی دار بین گروهها یافت نمی شود. بعلاوه، در هفته های چهارم و هشتم میزان گلوکز سرم در دو گروه دیابتی و دیابتی تحت تیمار با بوزیدان بطور بسیار بارز و معنی دار ($p<۰/۰۰۱$) بیشتر از گروه کنترل بود، در حالیکه گروه کنترل تحت تیمار تفاوت معنی دار را در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد. بعلاوه، تیمار با بوزیدان در گروه دیابتی در همین دوره های زمانی هیچگونه کاهش معنی دار در میزان گلوکز سرم در مقایسه با گروه دیابتی تیمار نشده بوجود نیاورد (جدول ۱).

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار اثر تجویز خوراکی ریشه بوزیدان بر میزان وزن و گلوکز سرم در موش های صحرایی گروه کنترل و دیابتی

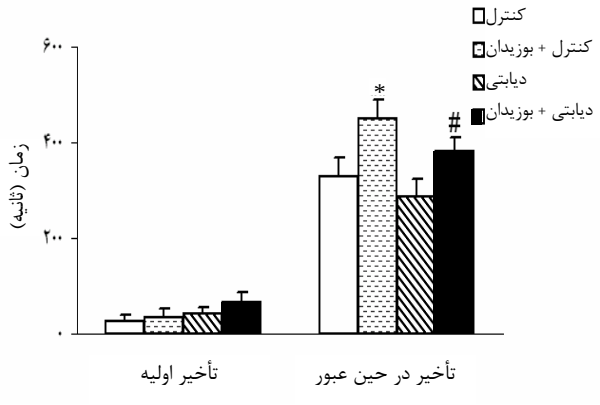
	وزن بدن (gr)			میزان گلوکز سرم (mg/dl)		
	قبل بررسی	هفته ۴	هفته ۸	قبل بررسی	هفته ۴	هفته ۸
کنترل	۲۹۹/۲ ± ۹/۶	۳۰۹/۸ ± ۸/۳	۳۲۱/۶ ± ۹/۱	۱۳۹/۳ ± ۹/۲	۱۴۸/۵ ± ۱۰/۶	۱۲۳/۴ ± ۹/۷
کنترل + بوزیدان	۳۱۲/۶ ± ۹/۱	۳۱۸/۳ ± ۱۰/۵	۳۲۲/۵ ± ۱۱/۴	۱۴۵/۲ ± ۱۰/۱	۱۴۲/۶ ± ۸/۹	۱۲۷/۶ ± ۹/۲
دیابتی	۲۹۱/۶ ± ۱۰/۳	۲۳۰/۱ ± ۱۲/۶**	۲۰۷/۴ ± ۱۰/۷**	۱۳۸/۴ ± ۱۱/۳	۴۲۳/۳ ± ۱۸/۴**	۴۱۱/۳ ± ۱۳/۹**
دیابتی + بوزیدان	۳۱۵/۷ ± ۱۱/۴	۲۶۷/۱ ± ۱۰/۸*	۲۳۸/۳ ± ۱۵/۴**	۱۲۹/۹ ± ۸/۳	۳۷۸/۴ ± ۱۵/۱**	۳۶۵/۵ ± ۱۶/۶**

* $P<۰/۰۵$

** $P<۰/۰۰۱$ (در مقایسه با گروه کنترل)

Archive of SID
www.SID.ir

از نظر تأخیر اولیـه در پایـان مـاه اول، دو گـروه دیـابتی و دیابتی تحت تیمار با بوزیدان یک یک افزایش غیـر معنـی دار در مقایسه با گروه کنترل نشاندادند. همین افزایش غیر معنی دار به میزان کمتر در گروه کنترل تحت تیمـار نیـز مشاهده گردید. از نظر تأخیر در حین عبور در پایان همین ماه مشخص شد که ایـن پـارامتر در گـروه کنتـرل تحـت تیمار با بوزیدان بطور معنی دار (p<۰/۰۱) بیشتر از گـروه کنترل می باشد. ضمناً گروه دیابتی یک کاهش غیر معنی دار در مقایسه بـا گـروه کنتـرل نـشان داد. در مقایـسه دو گروه دیابتی و دیابتی تحت تیمار بـا بوزیـدان نیـز معلـوم گردید که یک تفـاوت معنـی دار (p<۰/۰۵) بـین ایـن دو گروه وجود دارد (شکل ۱).

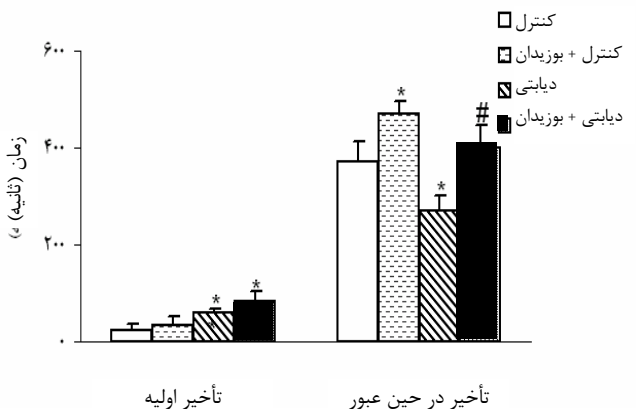


شکل ۱: میزان تأخیر اولیه و تأخیر در حین عبور در آزمون اجتنابی غیر فعال در موشهای صحرایی کنترل و دیابتی تیمار شده با ریشه بوزیدان بصورت خوراکی پس از گذشت یک ماه.

* P<۰/۰۱ (در مقایسه با گروه کنترل)،

P<۰/۰۵ (در مقایسه با گروه دیابتی)

در پایان ماه دوم نیز فقط دو گروه دیابتی و دیـابتی تحـت تیمار یک افزایش معنی دار (p<۰/۰۵) در تـأخیر اولیـه در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند. بعلاوه، میزان تأخیر در حین عبوردر گـروه کنتـرل تحـت تیمـار بطـور معنـی دار (p<۰/۰۵) بیـشتر از گـروه کنتـرل و مقـدار آن در گـروه دیابتی درمـان نـشده بطـور بـارز و معنـی دار کمتـر بـود (p<۰/۰۵) که این خود مؤید نیاز به حـداقل بـیش از یـک ماه برای بروز برخی تغییرات رفتاری شامل بروز نقائص در حافظه و یادگیری در موشهای صحرایی دیابتی می باشـد. از طرف دیگر، این پارامتر در گروه دیابتی تحـت تیمـار بـا بوزیـدان بطـور بـارز و معنـی دار بیـشتر از گـروه دیـابتی (p<۰/۰۵) بود (شکل ۲).



شکل ۲: میزان تأخیر اولیه و تأخیر در حین عبور در آزمون اجتنابی غیر فعال در موشهای صحرایی کنترل و دیابتی تیمار شده با ریشه بوزیدان بصورت خوراکی پس از گذشت دو ماه.

* P<۰/۰۵ (در مقایسه با گروه کنترل)

P<۰/۰۵ (در مقایسه با گروه دیابتی)

بحث:

نتایج ایـن بررسـی نـشان داد کـه تجـویز خـوراکی و درازمدت ریشه بوزیدان با یک نسبت وزنی ۱/۱۵ به مـدت یک الی دو مـاه در موشـهای گروههـای کنتـرل و دیـابتی تغییر معنی دار در میزان گلوکز سرم ایجاد نمی نماید. هر چند همالاتا و همکاران اثـر هیپوگلیـسمیک میـوه برخـی گیاهان خانواده Solanaceae که بوزیدان نیز در این گـروه قرار می گیرد را در مدل تجربی دیابت قنـدی نـوع ۱ القـا شـده توسـط استرپتوزوتوسـین در مـوش صـحرایی نـشان داده اند (۱۶) ولی در مطالعه حاضر تجویز خـوراکی ریـشه بوزیـدان بـه مـدت ۱ الـی ۲ مـاه فاقـد هـر گونـه اثـر هیپوگلیسمیک بارز و معنی دار در موشهای دیابتی بود که علت آن تا حدودی به تفاوت در مواد مؤثره اجزاء مختلـف گیاه مربوط می باشد.

بعلاوه، در موشهای دیابتی و دیـابتی تحـت تیمـار بـا بوزیدان فقط در پایان ماه دوم افزایش معنـی دار در مـورد تأخیر اولیه در مقایسه با گروه کنترل بدست آمد و از نظـر تأخیر اولیه هیچگونه تفاوت معنی دار بین دو گروه دیابتی و دیابتی تحت تیمار مشاهده نگردید که خـود بـه مفهـوم عدم تغییر توانـایی موشـها در کـسب اطلاعـات جدیـد در موشهای دیابتی تحت تیمار می باشـد. از طـرف دیگـر، در خصوص حفظ و به یاد آوری اطلاعات (که با اندازه گیـری تأخیر در حین عبور مشخص شـد) تیمـار موشـهای گـروه کنترل با ریشه بوزیدان موجب افزایش معنی دار تأخیر در

Archive of SID

www.SID.ir

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 یافته های 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 می باشد. 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 می شوند به میزان زیاد بدنبال دیابتی شدن تحت تأثیر قرار می گیرند. در این ارتباط بروز دیابت قندی موجب تشدید استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی در برخی نواحی مغزی شامل هیپوکامپ شده (۱۸،۱۹) و سطح فاکتورهای رشد شبه انسولین(IGF) و فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز(BDNF) در برخی نواحی مغز کاهش می یابد.(۲۴-۲۰). در بررسی حاضر مشخص شد که وجود حالت دیابت به مدت دو ماه موجب افزایش تأخیر اولیه در موشهای دیابتی می شود که این تا حدود کم دال بر افزایش توانایی حیوان در کسب اطلاعات و مهارتهای جدید و تا حدود زیاد معرف کاهش تحرک حیوان می باشد که این با نتایج تحقیق بایداس و همکاران مطابقت دارد هرچند 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 نموده اند که همین نتیجه پس از دو ماه در بررسی حاضر نیز بدست آمد. بر اساس شواهد موجود، تغییرات حاصله در این توانائیها را می توان به تغییرات پلاستیسیته 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 می توانند دخالت داشته باشند (۲۶-۲۵). بعلاوه، در بررسی حاضر اثر سودمند مصرف خوراکی و مزمن ریشه بوزیدان 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 تأئید قرار گرفت. در این خصوص قبلاً مشخص شده است که بروز دیابت قندی درموش 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 می گردند می شود و درمان با عصاره بوزیدان موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و در نتیجه تخفیف دژنراسیون در نواحی قشری و هیپوکامپ می گردد(۱۳،۱۴). از طرف دیگر، در بررسی انجام شده توسط موهانتی و همکاران مشخص شد که تجویز عصاره هیدروالکلی بوزیدان به فرم خوراکی به مدت چهار هفته دارای خاصیت محافظت کنندگی قلب در مدل تجربی نکروز میوکارد القا شده توسط ایزوپرنالین در موش صحرایی می باشد که از این نظر قابل مقایسه با قدرت اثر ویتامین E از نظر خاصیت آنتی اکسیدانی و حفاظت قلبی – عروقی است (۲۷). همچنین، نتایج تحقیقات گوپتا و همکاران نشان داد که تیمار با بوزیدان به یک فرم وابسته به دوز موجب کاهش فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز و مهار پراکسیداسیون لیپیدی و اکسیداسیون پروتئینی القا شده توسط مس در موش کوچک آزمایشگاهی می گردد که بر این اساس در برقراری سلامت جسم و روان مؤثر خواهد بود (۱۳).

نتیجه نهایی:

مصرف خوراکی و درازمدت ریشه بوزیدان هر چند فاقد اثر هیپوگلیسمیک بارز در موشهای صحرایی نرمال و دیابتی می باشد، ولی از نظر یادگیری و حافظه در آزمون اجتنابی غیرفعال موجب افزایش بارز توانایی در حفظ و به یادآوری اطلاعات انبار شده در حیوانات نرمال و دیابتی شده می گردد.

سپاسگزاری :

بخشی از بودجه تحقیقاتی پژوهش حاضر از محل اعتبار پژوهشی معاونت پژوهشی دانشگاه شاهد (تهران) تأمین شده است که بدینوسیله تشکر می گردد. ضمناً نویسندگان مراتب تشکر وافر خود را از سرکار خانم فریبا انصاری کارشناس گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی شاهد در تهیه مواد و وسایل پژوهش و کمک به انجام آزمایشات اعلام می‌دارند.

Archive of SID
www.SID.ir

منابع :

1. American Diabetes Association. Clinical practice recommendation, screening for diabetes. Diabetes Care 1997;20:22-24.
2. Gleckman R, Morr J. Diabetes-related foot infection. Contemp Intern Med 1994;6:57-64.
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. Mishra LC, Singh BB, Dagenais S. Scientific basis for the therapeutic use of Withania somnifera (ashwagandha): a review. Altern Med Rev 2000; 5:334-346.
11. Withania Somnifera – Monograph. Altern Med Rev 2004; 9:211-214.
12. Ahmad M, Saleem S, Ahmad AS, Ansari MA, Yousuf S, Hoda MN, et al. Neuroprotective effects of Withania somnifera on 6-hydroxydopamine induced Parkinsonism in rats. Hum Exp Toxicol 2005;24:137-147.
13. Gupta SK, Dua A, Vohra BP. Withania somnifera (Ashwagandha) attenuates antioxidant defense in aged spinal cord and inhibits copper induced lipid peroxidation and protein oxidative mo-difications. Drug Metabol Drug Interact 2003; 19:211-222.
14. Dhuley JN. Effect of ashwagandha on lipid peroxidation in stress-induced animals. J Ethnopharmacol 1998; 60: 173-178.
15. Andallu B, Radhika B. Hypoglycemic, diuretic and hypocholesterolemic effect of winter cherry (Withania somnifera, Dunal) root. Indian J Exp Biol 2000; 38:607-609.
16. Hemalatha S, Wahi AK, Singh PN, Chansouria JP. Hypoglycemic activity of Withania coagulans Dunal in streptozotocin induced diabetic rats. J Ethnopharmacol 2004; 93:261-264.
17. 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.
18. 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 nor-mal adult rats. J Neurosci Res 2003; 74:512-523.
19. 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.
20. Nitta A, Murai R, Suzuki N, Ito H, Nomoto H, Katoh G, Furukawa Y, et al. Diabetic neuropathies in brain are induced by deficiency of BDNF. Neurotoxicol Teratol 2002; 24:695-701.
21. 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.
22. 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.
23. 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.
24. 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.
25. Reagan LP, McEwen BS. Diabetes, but not stress, reduces neuronal nitric oxide synthase expression in rat hippocampus: implications for hippocampal synaptic plas-

Archive of SID

www.SID.ir

ticity. Neuroreport 2002; 13:1801-1804.
26. Wioeniewski K, Fedosiewicz-wasiluk M, Holy ZZ, 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.
27. Mohanty I, Arya DS, Dinda A, Talwar KK, Joshi S, Gupta SK. Mechanisms of cardioprotective effect of Withania somnifera in experimentally induced myocardial infarction. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2004; 94:184-90.

Archive of SID

www.SID.ir