اثر تزریق داخل هیپوکامپی عصاره آبی برگ گیاه مرزنجوش (*Origanum Vulgare* L. ssp. viridis) بر یادگیری و تثبیت حافظه فضایی موش صحرایی نر

طاهره حق پناه [۱]، خدیجه اسماعیل پور بزنجانی [۱]، محمدرضا آفرینش خاکی [۲*]، وحید شیبانی [۳]، مهدی عباس نژاد [٤]، یاسر معصومی اردکانی [۱]

خلاصه

سابقه و هدف: هیپوکامپ در فرآیند یادگیری و حافظه درگیر بوده و ترکیبات آنتی اکسیدان سبب بهبود یادگیری می‌شوند. باتوجه به اینکه گیاه مرزنجوش سرشار از ترکیبات آنتی اکسیدانی است، هدف از انجام مطالعه حاضر مطالعه اثر تزریق داخل هیپوکامپی عصاره آبی مرزنجوش بر یادگیری و حافظه فضایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه از ۲۸ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار استفاده شد. پس از کانول گذاری دوطرفه در نواحی خلفی جانبی هیپوکامپ، حیوانات به مدت ٤ روز متوالی، و در هر روز ٤ مرتبه در ماز آبی موریس آموزش داده شدند و در روز پنجم حافظه فضایی آنها مورد ارزیابی قرار گرفت. بیست دقیقه قبل از مرحله آموزش و آزمون حافظه (به مدت ۵ روز متوالی)، عصاره آبی مرزنجوش با مقادیر (۰/۳، ۰/۰۳ و ۰/۰۰۳ میکروگرم) و یا نرمال سالین (n=۷) در هر طرف به نواحی CA1 هیپوکامپ تزریق شد.

نتایج: تحقیق حاضر نشان داد که تزریق داخل هیپوکامپی عصاره آبی مرزنجوش می‌تواند مسافت کل پیموده شده و زمان سپری شده تا یافتن محل سکوی مخفی در ماز آبی موریس در طی روزهای آموزش را کاهش دهد ($P<۰/۰۵$). همچنین، در روز به خاطر آوری میانگین زمان سپری شده در ناحیه هدف و proximity به سکو در حیوانات تیمار شده با مرزنجوش با گروه شاهد اختلاف معنی داری نشان نداد.

نتیجه گیری: تزریق داخل هیپوکامپی عصاره آبی مرزنجوش حافظه کاری موش‌های صحرایی را در ماز آبی موریس بهبود می‌دهد، اما بر تثبیت حافظه فضایی تأثیری ندارد.

واژگان کلیدی: گیاه دارویی، مرزنجوش، هیپوکامپ، یادگیری، ماز آبی موریس، موش های صحرایی

فصلنامه علمی - پژوهشی فیض، دوره چهاردهم، شماره ٤، زمستان ۱۳۸۹، صفحات ۳۸۷-۳۸۰

مقدمه

گیاه مرزنجوش با اسم علمی *Origanum Vulgare* ssp. viridie از تیره Lamiaceae (Labiatae) پراکنش وسیع جهانی دارد. این گیاه در مناطق شمال و شمال غرب ایران پراکندگی بیشتری دارد و در مناطق گرم جنوبی یافت نمی‌شود [۱]. در طب سنتی بر ضد بیماری‌های تنفسی، برطرف نمودن زکام [۲]، درمان بیماری‌های دیابت شیرین [۳] و لوسمی مورد استفاده قرار گرفته است [٤]. هم‌چنین مشخص شده است تجویز داخل صفاقی عصاره آبی مرزنجوش یادگیری تمایزی موش‌های صحرایی در ماز T شکل را بهبود می‌بخشد [۵].

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنرکرمان

[۲] کارشناس ارشد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

[۳] دانشیار، مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

[۴] دانشیار،گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنرکرمان

* **نشانی نویسنده مسوول:**
کرمان ، چهارراه طهماسب آباد، مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان

تلفن: ۰۹۱۳۳۴۲۲۳۶۷ **دورنویس:** ۰۳۴۱۲۲۶۴۱۹۸

پست الکترونیک: reza.afarinesh@gmail.com

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۱/۸ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۸۹/۸/۹

عصاره آبی گیاه خاصیت آنتی اکسیدانی دارد [٦] و از مهمترین ترکیباتی که در عصاره آبی این گیاه وجود دارد، می‌توان به رزمارینیک اسید، اریوسیتین، آپی ژنین گلیکوزید، اوریگانول و اورسالیک اسید اشاره کرد [۸،۷]. مشخص شده که رزمارینیک اسید علاوه بر کاهش استرس موش‌های صحرایی، سبب بهبود یادگیری فضایی در ماز Y-شکل و بیماری آلزایمر می‌شود [۱۰،۹]. در بیماری آلزایمر افزایش سطح استیل کولین در شکاف سیناپسی سبب بهبود این بیماری می گردد [۱۱] و اسید اورسالیک می‌تواند از طریق مهار فعالیت آنزیم استیل کولین استراز در درمان بیماری مذکور موثر باشد [۱۲]. علاوه بر رزمارینیک اسید و اورسالیک اسید، سایر ترکیبات فلاونی، فاونولی و فلاونوئیدی، این گیاه را به عنوان یک آنتی اکسیدان بسیار موثر مطرح می‌نماید [۱۳-۷]. مشخص شده است رادیکال‌های آزاد سبب پراکسیداسیون فسفولیپیدها، آسیب DNA و دناتوره شدن پروتئین‌ها می‌شوند [۱٤]. هیپوکامپ جایگاه یادگیری فضایی در مغز می‌باشد و LTP یکی از مهمترین مکانیسم‌های سلولی است که در فرایند یادگیری و حافظه فضایی درگیر می‌باشد [۱٦،۱۵]. نشان داده شده است که مصرف آنتی اکسیدان‌ها سبب بهبود یادگیری فضایی و افزایش القاء LTP در موش‌های مبتلا به بیماری آلزایمر می‌شود [۱۷]. به

Archive of SID

www.SID.ir

طور کلی تولید رادیکال‌های آزاد در ارتباط با فرآیندهای معمول سلولی مانند متابولیسم سلولی، تنفس میتوکندریایی، فعالیت لیپواکسیژنازی و سیکلواکسیژنازی بوده [۱۸] که ممکن است در مغز افزایش یابند [۱۹]. تفاوت مقدار در تولید رادیکال‌های آزاد در هر نقطه از مغز شاید به میزان مصرف اکسیژن آن ناحیه مربوط باشد [۲۰]، لذا هیپوکامپ که مصرف اکسیژن بیشتری دارد، نسبت به مناطق دیگر مغز حساس‌تر است [۲۲،۲۱]. ممکن است اثر حفاظتی آنتی اکسیدان‌ها وابسته به توانایی هیدروژن دهی آنها، یا توانایی پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد باشد [۲۳]. باید دانست که رزمارینیک اسید که فراوان‌ترین ترکیب عصاره آبی این گیاه است، فعالیت جاروب‌گری قوی برای $ONOO^-$ و سایر ترکیبات رادیکال‌های آزاد دارد [۲٤]. مشخص شده ترکیب $ONOO^-$ در بیماران آلزایمری به وفور تولید شده و سبب تخریب بافتی بسیار وسیع در مغز بیماران آلزایمری می‌شود [۲۵]. بنابراین با توجه به نوع ترکیبات موجود در عصاره، این گیاه می‌تواند احتمالا طیف وسیعی از اثرات آنتی اکسیدانی در مغز را داشته باشد. در این پژوهش اثر تزریق مستقیم عصاره آبی مرزنجوش به داخل نواحی خلفی- جانبی هیپوکامپ موش‌های صحرایی در دستگاه ماز آبی موریس مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

حیوانات

در این مطالعه تجربی از ۲۸ سر موش صحرایی نر دو ماهه نژاد ویستار با میانگین وزنی (۲۵±۲۷۵) گرم که در خانه حیوانات مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان نگهداری می‌شدند استفاده گردید. حیوانات در قفس‌های مخصوص در شرایط ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی و در دمای(۲±۲۳) درجه سانتی-گراد قرار داشتند. همه حیوانات آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. غذای حیوان‌ها از کارخانه خوارک دام و طیور پارس تهران تهیه شده و به‌صورت پلیت‌های فشرده در اختیار موش‌ها قرار داده می‌شد. تمامی روش‌های آزمایشگاهی از جمله کار با حیوانات و نگهداری آنها، نحوه بیهوشی، جراحی بدون درد و .. این پژوهش براساس پروتکل تنظیم شده اخلاقی مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان (EC/KNRC/87-30) صورت گرفته است.

روش عصاره گیری وتعیین میزان رطوبت

اجزاء مورد نظر گیاه شامل گل، برگ و سر شاخه‌های جوان از گیاهان کاشته شده در منطقه یزد (ایران) جمع آوری گردیده و توسط کارشناسان گروه گیاه شناسی و هرباریوم گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم دانشگاه شهید باهنر مورد شناسایی قرار گرفتند. پس از جداسازی برگ گیاه و خشک کردن در سایه، نمونه به صورت پودر درآمده و هر بخش به نسبت وزنی-حجمی ۱/۱۰۰ با آب گرم (زیر نقطه جوش) مخلوط شد. سپس در حمام آب گرم ٤۵ درجه به‌مدت۲۰-۱۵ دقیقه خیسانده شد. پس از صاف کردن محلول مورد نظر، مجددا در حمام آب گرم زیر نقطه جوش قرار گرفت تا آب اضافی آن تبخیر شده و در نهایت عصاره عسل مانند به‌دست آید. برای تعیین میزان رطوبت مقدار مشخصی از عصاره عسلی با ترازو توزین شد و در اتو ۳۸ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از اینکه عصاره آب خود را از دست داد و کاملا خشک شد، دوباره وزن شده و با توجه به اختلاف وزن مشاهده شده درصد رطوبت نسبت به وزن اولیه (۱٦/۸ درصد) به‌دست آمد، سپس غلظت‌های مورد نظر تهیه گردید [۵].

جراحی و گروه‌ها

جهت انجام تزریقات داخل هیپوکامپی، ابتدا هر موش با استفاده از داروهای بیهوشی کتامین هیدروکلراید (ساخت کارخانه آلفاسان هلند) با دوز (۸۰ mg/kg/ip) و زایلازین هیدروکلراید (ساخت کارخانه آلفاسان هلند) با دوز (۵ mg/kg) بیهوش شده و سپس در دستگاه استریوتاکس قرارداده می شد. پس از ایجاد یک برش در سطح جمجمه مطابق با اطلس پاکسینوس و واتسون دو عدد کانول راهنما (۲۳ G) در مختصات نواحی خلفی جانبی CA1 هیپوکامپ (D=۳/۲ mm، L=±۲/۲ mm، AP=+۳/۸) به صورت دو طرفی قرار داده شد [۲٦]. پس از طی زمان بهبودی (یک هفته پس از جراحی)، حیوانات در ٤ گروه آزمایش به‌طور تصادفی تقسیم شدند. این گروه‌ها عبارتند از: گروه شاهد با تزریق داخل هیپوکامپی سالین در حجم ۰/۵ µlit/site به مدت ۵ روز (گروه سالین) و گروه‌های تزریق داخل هیپوکامپی عصاره آبی مرزنجوش با دوزهای µgr/site (۰/۳، ۰/۰۳، ۰/۰۰۳) در حجم معادل تزریق نرمال سالین در گروه شاهد و به مدت ۵ روز. برای تزریق داخل هیپوکامپی عصاره یا نرمال سالین از سرنگ هامیلتون ۲۵ میکرولیتری و لوله پلی اتیلن ۱۰ استفاده شد. تمامی تزریق‌ها در حجم ۰/۵ میکرو لیتر و در مدت زمان ۵ دقیقه انجام بین ساعت ۱۱-۹ صبح انجام شد. تزریق عصاره یا سالین در گروه های مورد نظر هر روز ۲۰ دقیقه قبل از هر بار مرحله آموزش (Training trial) و مرحله ارزیابی (Probe) (جمعا به مدت ۵ روز) در دستگاه ماز آبی موریس انجام می‌شد.

آزمون رفتاری

به‌منظور ارزیابی یادگیری فضایی از دستگاه ماز آبی موریس استفاده شد. این دستگاه از یک حوضچه با قطر ۱۵۰ و

Archive of SID

www.SID.ir

ارتفاع ٦٠ سانتی‌متر ساخته شده است که تا ارتفاع ٢٥ سانتی‌متر با آب ١±٢١ درجه سانتی گراد پر می‌شود. یک سکو با قطر ١٠ سانتی‌متر در مرکز ربع دایره در جنوب غربی قرار می‌گرفت. از طریق یک دوربین مدار بسته حرکات موش به کامپیوتر و نرم افزار مربوطه (Noldus, Netherlands; version:6 XT) انتقال می‌یافت و پارامترهای مختلف از جمله مسافت طی شده و مدت زمان سپری شده در ماز طی مراحل زیر ثبت می شد.

الف- مرحله سازش با محیط (Habituation): به‌منظور عادت کردن حیوان به محیط، در این مرحله ابتدا هر موش ٢٤ ساعت قبل از آموزش به مدت ٣ دقیقه در ماز بدون سکو شنا می‌کرد.

ب- مرحله آموزش (Training trial): هر موش به مدت ٤ روز و هر روز ٤ بار در ماز قرار داده می‌شد. در هر بار آزمایش موش از یک سمت ماز به‌صورت تصادفی رها شده و مسیر حرکات حیوان به مدت ٩٠ ثانیه ثبت می‌شد. موش بایستی در این مرحله با شنا کردن سکوی مخفی در ماز را پیدا می‌کرد. پس از یافتن سکو به حیوان اجازه داده می‌شد به مدت ٣٠ ثانیه بر روی آن استراحت کند. در این مرحله کل مسافت طی شده و مدت زمان سپری شده تا یافتن سکوی مخفی در ماز ثبت می‌شد.

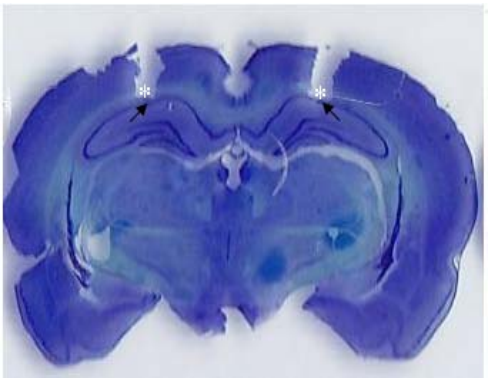
ج- مرحله ارزیابی (Probe): ٢٤ ساعت پس از آخرین روز مرحله آموزش، حافظه فضایی موش‌ها در ماز فاقد سکو مورد ارزیابی قرار گرفت. در این مرحله یک آزمون ٦٠ ثانیه ای از هر حیوان ثبت شد و در طی این مدت، مدت زمان حضور موش در محوطه‌ای که قبلا سکو وجود داشته، مسافت طی شده و تعداد ورود آن به این ناحیه به عنوان شاخص و ملاک حافظه ثبت و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت [٢٧].

بافت شناسی

در پایان آزمایش موش‌ها با گاز دی اکسید کربن بیهوش می‌شدند. سپس مغز حیوان از جمجمه خارج می‌شد و پس از ثابت کردن مغز در فرمالین ١٠ درصد برش‌های ٨٠ میکرونی از آن تهیه شده و با رنگ آمیزی نیسل محل قرار گرفتن کانول زیر میکروسکپ نوری بررسی می‌شد. در صورت صحیح نبودن محل کانول داده‌های آن موش در تحلیل آماری حذف می‌گردید (شکل شماره ١).

آنالیز آماری

از نرم افزار آماری Prism جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌های این مطالعه استفاده شد. برای مقایسه متغیرهای کمی مسافت و زمان شنا کردن حیوان در ماز تا رسیدن به سکو طی روزهای یادگیری از آزمون‌های تجزیه و تحلیل Repeated measures ANOVA استفاده شد. هم‌چنین در طی روز به خاطرآوری (آزمون probe)، جهت تجزیه و تحلیل متغیرهای کمی سرعت و کل مسافت پیموده شده حیوان در ماز و نیز زمان سپری شده توسط حیوان در اطراف ناحیه سکو (به قطر ٢٠ سانتی‌متر) که به عنوان Proximity در نظر گرفته می‌شود، از آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد و در نهایت جهت آنالیز زمان سپری شده توسط حیوان در نواحی چهار گانه ماز در روز به خاطر آوری از آنالیز واریانس دو طرفه استفاده گردید. به‌منظور مشخص نمودن جایگاه معنی‌داری از پس آزمون Bonferroni استفاده شد و سطح معنی‌داری $P<0/05$ در نظرگرفته شد. داده‌های آماری به صورت میانگین±خطای استاندارد گزارش شده‌اند.



شکل شماره ١- عکس بافت شناسی از مغز موش که محل کانول راهنما و تزریق را در ناحیه خلفی هیپوکامپ نشان می دهد.

نتایج

یافته‌های روزهای یادگیری

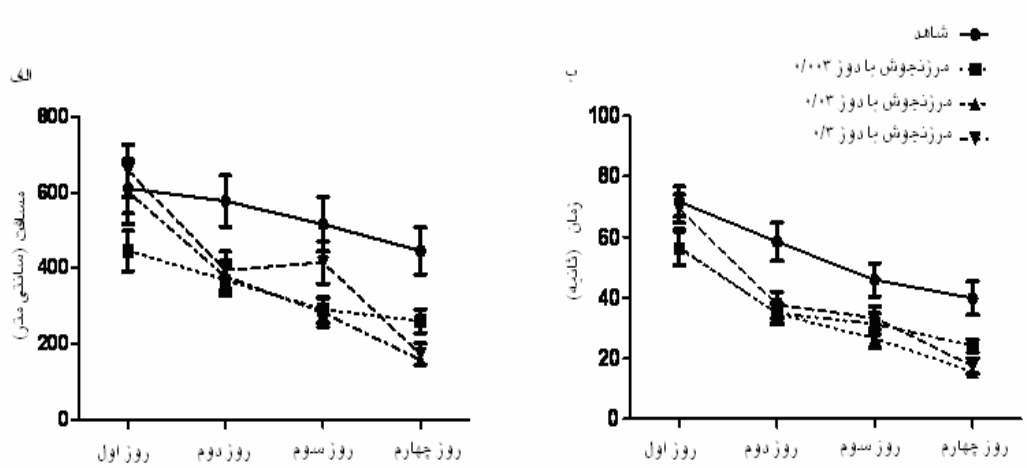
الف- مسافت شنا کردن: آنالیز نتایج نشان داد که با تکرار آزمایش در روزهای مختلف، مسافت کل شنا کردن در ماز تا رسیدن به سکو در همه گروه‌ها به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد ($P<0/001$، $F_{3, 463}=23/79$). تزریق داخل هیپوکامپی دوزهای (٠/٣، ٠/٠٣ و ٠/٠٠٣ میکروگرم) عصاره آبی مرزنجوش در طی روزهای یادگیری باعث کاهش مسافت طی شده تا پیدا نمودن سکوی مخفی در ماز آبی موریس شد ($P<0/001$، $F_{3, 463}=10/2$). هم‌چنین، تعامل بین دو متغیر روز و دارو، تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($P<0/29$، $F_{9, 463}=1/88$) (شکل شماره ٢ الف).

ب-زمان شنا کردن: تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که طی روزهای مختلف زمان شنا کردن تا یافتن سکو در همه گروه‌ها به طور معنی داری کاهش می یابد ($P<0/0001$، $F_{3, 464}=58/38$). تزریق داخل هیپوکامپی عصاره آبی مرزنجوش به‌صورت معنی‌داری سبب کاهش در میانگین زمان شنا کردن موش‌ها تا رسیدن به سکو در ماز آبی موریس شد ($P<0/0001$، $F_{3, 464}=16/44$). در

Archive of SID

www.SID.ir

ضمن تعامل بین دو متغیر ذکر شده‌ی روز و دارو معنـی‌دار نمـی- باشد (P=۰/۳۸، $F_{۹, ٤٦٤}$= ۱/۰۷) (شکل شماره ۲ ب).

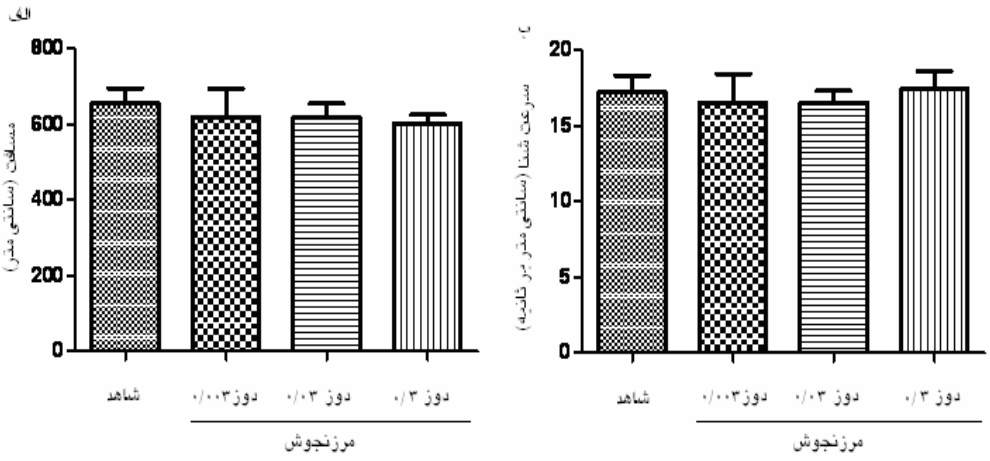


شکل شماره ۲- اثر تزریق داخل هیپوکامپی عصاره آبی مرزنجوش با دوزهای (۰/۳، ۰/۰۳ و ۰/۰۰۳ میکروگرم) بر میانگین مسافت شنا کردن در ماز آبی موریس (الف) و زمان سپری شده جهت یافتن سکوی مخفی (ب) در طی روزهای یادگیری. در گروه شاهد، نرمال سالین به صورت داخل هیپوکامپی تزریق شده است. داده ها به صورت میانگین±خطای استاندارد می باشند (n=۷).

یافته‌های آزمون به‌خاطرآوری

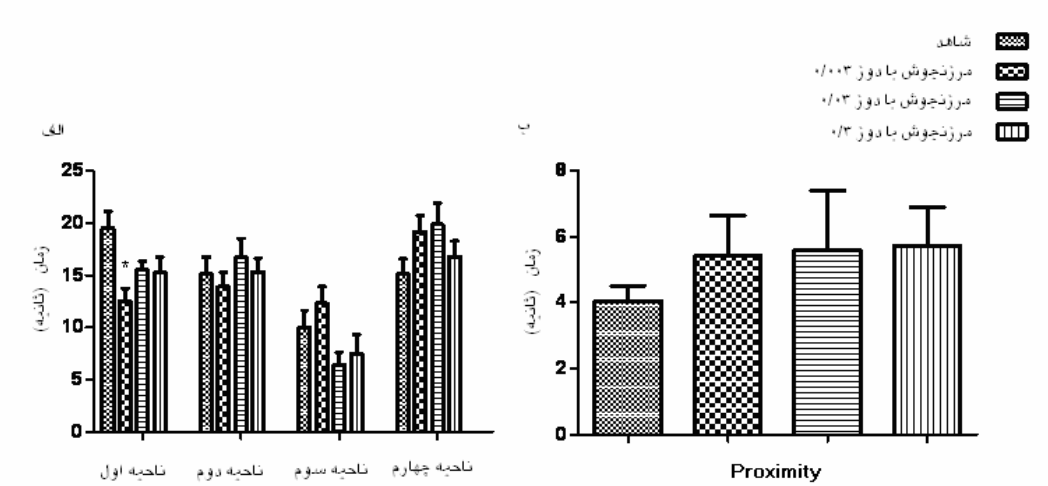
الف- مسافت شناکردن: آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد مسافت کل شنا کردن در روز به خاطر آوری بین گروه‌های تجویز شده با مرزنجوش و گروه شاهد تفاوت معنی داری ندارد. همچنین آنالیز واریانس یک طرفه داده‌های مربوط به سرعت حیوانات، حاکی از عدم معنی‌داری بین گروه‌ها می‌باشد. بنابراین تزریق داخل هیپوکامپی عصاره آبی مرزنجوش بر فعالیت حرکتی حیوانات اثری نداشته است (شکل شماره ۳).

ب-زمان شنا کردن: آنالیز واریانس دوطرفه (دارو و نواحی چهارگانه) داده‌های روز آزمون به‌خاطر آوری نشان داد زمان شنا کردن گروه‌ها در نواحی چهارگانه ماز متفاوت است (P=۰/۰۳، $F_{۳, ۲۹}$=۳/۲۷)؛ به‌طوری که حیوانات دریافت کننده مرزنجوش با دوز ۰/۰۰۳ در مقایسه با گروه شاهد مدت زمان کمتری را در ناحیه اول گذراندند (P<۰/۰۵)، اما در سایر نواحی اختلاف بین گروه‌های مرزنجوش و گروه شاهد معنی دار نمی‌باشد (شکل شماره ٤ الف). همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اختلاف زمان سپری نمودن حیوانات تیمار شده با مرزنجوش در نزدیکی ناحیه سکو (proximity) در مقایسه با گروه شاهد معنی‌داری نمی‌باشد (شکل شماره ٤ ب).



شکل شماره ۳- اثر تزریق داخل هیپوکامپی عصاره آبی مرزنجوش با دوز های (۰/۳، ۰/۰۳ و ۰/۰۰۳ میکروگرم) بر میانگین مسافت شنا کردن در ماز آبی موریس (الف) و سرعت شنای حیوانات (ب) در طی روز به خاطر آوری. در گروه شاهد نرمال سالین به صورت داخل هیپوکامپی تزریق شده است. داده ها به صورت میانگین ±خطای استاندارد می‌باشند (n=۷).

www.SID.ir



شکل شماره ٤- اثر تزریق داخل هیپوکامپی عصاره آبی مرزنجوش با دوز های (۰/۳، ۰/۰۳ و ۰/۰۰۳ میکروگرم) بر میانگین مدت زمان سپری نمودن حیوانات در نواحی چهار گانه ماز آبی موریس (الف) و زمان سپری شده در اطراف سکو (Proximity) (ب) در طی روز به خاطر آوری. در گروه شاهد نرمال سالین به صورت داخل هیپوکامپی تزریق شده است. داده ها به صورت میانگین ±خطای استاندارد می‌باشند (n=۷).

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که تزریق داخل هیپوکامپی عصاره آبی مرزنجوش سبب بهبود یادگیری در طی روزهای آموزش و در نتیجه حافظه کاری می‌شود. به‌طور کلی جایگاه اصلی یادگیری فضایی در هیپوکامپ بوده و یکی از راه‌های اکتساب یادگیری، افزایش کارایی پایدار در انتقال سیناپسی و استفاده مکرر از سیناپس می‌باشد. بنابراین هرگونه تغییر در هیپوکامپ ساختار و عملکرد آن‌را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در نتیجه تداخل داروهایی که نقش تنظیمی و تعدیلی بر مدارهای نورونی این ناحیه مغزی دارند، ذخیره حافظه مربوط به اطلاعات جدید را تعدیل می‌نمایند. LTP یکی از مهمترین مدل‌های شکل پذیری سیناپسی است و تصور می‌شود در رابطه با تثبیت حافظه باشد. این فرایند در هیپوکامپ به‌خوبی به‌وسیله اعمال تحریکات با فرکانس بالا قابل القاء و بررسی می‌باشد [١٦]. مشخص شده است تزریق داخل صفاقی عصاره آبی مرزنجوش یادگیری تمایزی موش صحرایی در ماز T-شکل را بهبود می‌دهد [٥]. اگرچه در مطالعه حاضر تزریق داخل هیپوکامپی عصاره آبی مرزنجوش می‌تواند پارامترهای اندازه گیری شده طی روزهای یادگیری را بهبود دهد، اما مکانیسم اثر بهبود دهندگی این عصاره در حیوانات تیمار شده هنوز مشخص نشده است. یکی از مکانیسم‌های احتمالی در بهبود یادگیری ممکن است در خواص آنتی اکسیدانی مرزنجوش نهفته باشد. نشان داده شده است که مقدار تولید رادیکال‌های آزاد در هر نقطه از مغز بستگی به میزان مصرف اکسیژن آن ناحیه دارد [١٨]، لذا سلول‌های هیپوکامپی که در جریان فعالیت‌های نظیر یادگیری، مصرف اکسیژن بیشتری داشته و در نتیجه تولید رادیکال آزاد بیشتری نموده و در مواجهه با تغییرات اکسیژن نسبت به مناطق دیگر مغز حساس‌ترند [٢٢،٢١]. رادیکال‌های آزاد شکل پذیری سیناپسی را در هیپوکامپ کاهش داده و از تقویت طولانی مدت جلوگیری می‌کنند [٢٨]. گونه‌های اکسیژن فعال می‌توانند در مغز با اسیدهای چرب اشباع نشده واکنش داده و پراکسیداسیون لیپیدها را افزایش دهند [٢٩]. آنتی اکسیدان‌ها سبب کاهش در پراکسیداسیون لیپیدها شده و از این طریق سبب کاهش اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد در کاهش پلاستیسیتی سیناپسی و تقویت طولانی مدت هیپوکامپ می‌شوند [٣٠]. بعضی از ترکیبات گیاه مرزنجوش اندوپراکسیداسیون لیپیدی در نورون‌ها را کاهش می‌دهند [٣١،٨]. از مهمترین ترکیباتی که در عصاره آبی این گیاه می‌توان به رزمارینیک اسید، اورسالیک اسید، اریوسیتین، آپی‌ژنین گلیکوزید و اوریگانول A و B اشاره کرد که اثرات آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی دارند [١٣-٧]. مشخص شده است که اورسالیک اسید و رزمارینیک اسید دارای خاصیت جاروب‌گری جهت برداشت رادیکال‌های آزاد می‌باشند [١٣،٧]. در مطالعات کشت سلول، مشخص شده است رزمارینیک اسید و اورسالیک اسید در برابر واکنش‌های اکسیداتیو القاء شده با پروتئین β-آمیلوئید اثر محافظت کنندگی دارند [٣٣،٣٢،٧]. در یک مطالعه برون تنی مشخص شد که بتا آمیلوئید تولید رادیکال‌های آزاد و پراکسیداسیون لیپیدها در سلول‌های عصبی را افزایش می‌دهد. به‌علاوه نشان داده شد که پیش درمانی با اورسالیک اسید و ویتامین E سبب جلوگیری از اثرات نوروتوکسیک القاء شده این پروتئین

Archive of SID

www.SID.ir

می‌شود [۳۲]. رزمارینیک اسید نه تنها از تشکیل فیبرهای بتا آمیلوئید جلوگیری می‌کند، بلکه در محیط برون تنی سبب ناپایداری فیبرهای بتا آمیلوئید تشکیل یافته می‌شود [۳٤]. مکانیسم احتمالی دیگر در بهبود یادگیری ممکن است مربوط به افزایش سطح استیل کولین هیپوکامپ در نتیجه تزریق موضعی عصاره مرزنجوش باشد. مهار کننده‌های استیل کولین استراز به‌طور طبیعی در بسیاری از علف های طبی از جمله مرزنجوش وجود دارند. مشخص شده اسید اورسالیک موجود در مرزنجوش دارای خاصیت مهار کنندگی فعالیت آنزیم استیل کولین استراز بوده و از این طریق ممکن است سطح استیل کولین مغز را افزایش دهد [۳۵،۱۲]. مطالعات مختلف در زمینه یادگیری مشخص نموده‌اند که افزایش سطح استیل کولین در مغز و ناحیه هیپوکامپ می‌تواند سبب بهبود یادگیری و حافظه فضایی موش‌ها شود [۳۹-۳٦]. علاوه بر آن بیان شده است که در نواحی هیپوکامپ و استریاتوم موش‌های صحرایی که در ماز صلیبی آموزش داده می‌شوند ترشح استیل کولین افزایش می‌یابد [۳۷].

نتیجه گیری

مطالعه حاضر نشان داد که عصاره برگ گیاه مرزنجوش یادگیری فضایی در ماز آبی موریس را تحت تأثیر قرار می‌دهد، اما اثر قابل ملاحظه‌ای بر تثبیت حافظه فضایی ندارد. مکانیسم احتمالی اثر مرزنجوش بر یادگیری هنوز مشخص نشده است ولی ممکن است این اثر مربوط به خواص آنتی اکسیدانی و آنتی استیل کولین استرازی عصاره آبی مرزنجوش مربوط شود. بدیهی است که آزمایشات بیشتری جهت تعیین اثر عصاره مورد نظر بر یادگیری فضایی لازم می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مرکز تحقیقات علوم اعصاب کرمان (طرح مصوب ع/۲٤-۸۷) صورت پذیرفته است. نویسندگان این مقاله بدین وسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از مرکز مذکور اعلام می‌دارند.

References:

[1] Rechinger, Karl-Heinz, Druk A. Flora iranica, Labiatae. Akademische Druck Verlagsantalt. Graze, 1982.

[2] Broucke CO V, Lemli JA. Antispasmodic activity of Origanum compactum. Part 2: Antagonistic effect of thymol and carvacrol. ***Planta Med*** 1982; 188: 190-45.

[3] Lemhadri A, Zeggwagh NA, Maghrani M, Jouad H, Eddouks M. Anti-hyperglycaemic activity of the aqueous extract of Origanum vulgare growing wild in Tafilalet region. ***J Ethnopharmacol*** 2004; 92: 251-6.

[4] Goun E, Cunningham G, Solodnikov S, Krasnykch O, Miles H. Antithrombin activity of some constituents from Origanum vulgare. ***Fitoterapia*** 2002; 73: 692-4.

[5] Abbasnejad M, Abbasnejad A, Afarinesh M, Hassibi N. Evaluation of origanum leaves extract on spatial learning in male rats. ***J Physio and Pharma*** 2006; 10: 143-50. [in Persian]

[6] Kintzios S, Papageorgiou K, Yiakoumettis I, Baricevic D, Kusar A. Evaluation of the antioxidants activities of four Slovene medicinal plant species by traditional and novel biosensory assays. ***J Pharm Biomed Anal*** 2010; 53: 773-6.

[7] Kulisic T, Krisko A, Dragovic-Uzelac V, Milos M, Pifat G. The effects of essential oils and aqueous tea infusions of oregano (Origanum vulgare L. spp. hirtum), thyme (Thymus vulgaris L.) and wild thyme (Thymus serpyllum L.) on the copper-induced oxidation of human low-density lipoproteins. ***Int J Food Sci Nutr*** 2007; 58: 87-93.

[8] Matsuura H, Chiji H, Asakawa C, Amano M, Yoshihara T, Mizutani J. DPPH radical scavengers from dried leaves of oregano (Origanum vulgare). ***Biosci Biotechnol Biochem*** 2003; 67: 2311-6.

[9] Meizoso I. R, Marin FR, Herrero M, Senorans FJ, Reglero G, Cifuentes A, Ibanez E. Subcritical water extraction of nutraceuticals with antioxidant activity from oregano. Chemical and functional characterization. ***J Pharm Biomed Anal*** 2006; 41: 1560-5.

[10] Alkam T, Nitta A, Mizoguchi H, Itoh A, Nabeshima T. A natural scavenger of peroxynitrites, rosmarinic acid, protects against impairment of memory induced by Abeta (25-35). ***Behav Brain Res*** 2007; 180: 139-45.

[11] Gottfries CG, Adolfsson R, Aquilonius SM, Carlsson A, Eckernas SA, Nordberg A, et al. Biochemical changes in dementia disorders of Alzheimer type (AD/SDAT). ***Neurobiol Aging*** 1983; 4: 261-71.

[12] Vagi E, Rapavi E, Hadolin M, Vasarhelyine Peredi K, Balazs A, Blazovics A, et al. Phenolic and triterpenoid antioxidants from Origanum majorana L. herb and extracts obtained with different solvents. ***J Agric Food Chem*** 2005; 53: 17-21.

[13] Kim JS, Huh JI, Song SH., Shim KH, Back BS, Kim KW. et al. The antioxidative mechanism of ursolic acid. ***J Gastroenterol*** 1996; 6: 52–6.

[14] Blomhoff R. Antioxidants and oxidative stress. ***Tidsskr Nor Laegeforen*** 2004; 124: 1643-45.

[15] Dupret D, O'Neill J, Pleydell-Bouverie B, Csicsvari J. The reorganization and reactivation of

Archive of SID

www.SID.ir

hippocampal maps predict spatial memory performance. ***Nat Neurosci*** 2010; 13: 995-1002.
[16] Lynch MA. Long-term potentiation and memory. ***Physiol Rev*** 2004; 84: 87-136.
[17] Li J, Wang C, Zhang JH, Cai JM, Cao YP, Sun XJ. Hydrogen-rich saline improves memory function in a rat model of amyloid-beta-induced Alzheimer's disease by reduction of oxidative stress. ***Brain Res*** 2010; 1328: 152-61.
[18] Coyle JT, Puttfarcken P. Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders. ***Science*** 1993; 262: 689-95.
[19] Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. ***Lab Invest*** 1982; 47: 412-26.
[20] Balu M, Sangeetha P, Murali G, Panneerselvam C. Age-related oxidative protein damages in central nervous system of rats: modulatory role of grape seed extract. ***Int J Dev Neurosci*** 2005; 23: 501-7.
[21] Arkhipov VI, Budantsev A, Azarashvili AA. Study of the energy metabolism of the sensomotor cortex and hippocampus by the (14C)2-deoxyglucose method during the development of dissociated states. ***Zh Vyssh Nerv Deiat Im I P Pavlova*** 1986; 36: 576-8.
[22] Floyd RA, Carney JM. Age influence on oxidative events during brain ischemia/reperfusion. ***Arch Gerontol Geriatr*** 1991; 12: 155-7.
[23] Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. ***Free Radic Biol Med*** 1996; 20: 933-56.
[24] Qiao S, Li W, Tsubouchi R, Haneda M, Murakami K, Takeuchi F, Nisimoto Y, et al. Rosmarinic acid inhibits the formation of reactive oxygen and nitrogen species in RAW264.7 macrophages. ***Free Radic Res*** 2005; 39: 995-003.
[25] Castegna A, Thongboonkerd V, Klein JB, Lynn B, Markesbery WR, Butterfield DA. Proteomic identification of nitrated proteins in Alzheimer's disease brain. ***J Neurochem*** 2003; 85: 1394-01.
[26] Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 2nd ed, Academic Press. San Diego, CA, USA; 1986.
[27] Majlessi N, Kadkhodaee M, Parviz M, Naghdi N. Serotonin depletion in rat hippocampus attenuates L-NAME-induced spatial learning deficits. ***Brain Res*** 2003; 963: 244-51.
[28] Kiray M, Bagriyanik HA, Pekcetin C, Ergur BU, Uysal N, Ozyurt D, et al. Deprenyl and the relationship between its effects on spatial memory, oxidant stress and hippocampal neurons in aged male rats. ***Physiol Res*** 2006; 55: 205-12.
[29] Mecocci P, Mariani E, Cornacchiola V, Polidori MC. Antioxidants for the treatment of mild cognitive impairment. ***Neurol Res*** 2004; 26: 598-02.
[30] Serrano F, Klann E. Reactive oxygen species and synaptic plasticity in the aging hippocampus. ***Ageing Res Rev*** 2004; 3: 431-43.
[31] Dorman HJ, Bachmayer O, Kosar M, Hiltunen R. Antioxidant properties of aqueous extracts from selected lamiaceae species grown in Turkey. ***J Agric Food Chem*** 2004; 52: 762-70.
[32] Heo HJ, Cho HY, Hong B, Kim HK, Heo TR, Kim EK, Kim SK, et al. Ursolic acid of Origanum majorana L. reduces Abeta-induced oxidative injury. ***Mol Cells*** 2002; 13: 5-11.
[33] Pereira P, Tysca D, Oliveira P, Brum LF D, Picada JN, Ardenghi P. Neurobehavioral and genotoxic aspects of rosmarinic acid. ***Pharmacol Res*** 2005; 52: 199-03.
[34] Ono K, Hasegawa K, Naiki H, Yamada M. Curcumin has potent anti-amyloidogenic effects for Alzheimer's beta-amyloid fibrils in vitro. ***J Neurosci Res*** 2004; 75: 742-50.
[35] Chung YK, Heo HJ, Kim EK, Kim HK, Huh TL, Lim Y, et al. Inhibitory effect of ursolic acid purified from Origanum majorana L on the acetylcholinesterase. ***Mol Cells*** 2001; 11: 137-43.
[36] Zee E, Luiten PGM. An International Review Journal-Muscarinic Acetylcholine Receptors in the Hippocampus, Neocortex and Amygdala: a Review of Immunocytochemical Localization in Relation to Learning and Memory. ***Prog Neurobiol*** 1999; 58: 409-71.
[37] Chang Q, Gold PE. Switching memory systems during learning: changes in patterns of brain acetylcholine release in the hippocampus and striatum in rats. ***J Neurosci*** 2003; 23: 3001-5.
[38] Daniel JM, Dohanich GP. Articles-Behavioral/Systems-Acetylcholine Mediates the Estrogen-Induced Increase in NMDA Receptor Binding in CA1 of the Hippocampus and the Associated Improvement in Working Memory. ***J Neurosci*** 2001; 21: 6949-56.
[39] Pych JC, Chang Q, Colon-Rivera C, Haag R, Gold PE. Acetylcholine release in the hippocampus and striatum during place and response training. ***Learn Mem*** 2005; 12: 564-72.

Archive of SID

www.SID.ir