View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by Research Repository Portal of Medilam

اثر شنبلیله بر حافظه و یاد گیری و ظرفیت آنتی اکسیدان در هیپوکامپ رت های دیابتی تیپ II

مرجان معین[۱]، سید مهرداد کسائی[۱*]

۱گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد همدان، همدان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۴/۸/۱۷ تاریخ پذیرش:۹۵/۲/۱

چکیده

مقدمه: بر اساس شواهد مبنی بر اثرات درمانی شنبلیله در دیابت و نقش آن در تقویت حافظه و سلامت روان، در این مطالعه اثر تجویز عصاره شنبلیله بر حافظه و یاد گیری و هم چنین میزان آنتی اکسیدان در هیپو کامپ رت های دیابتی نوع ۲ مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها: در این مطالعه تجربی ۲۴ رت نر به ۴ گروه تقسیم شدند. گروه ۱ یا کنترل: تغذیه ساده، گروه ۲: دیابتی درمان نشده، گروه ۳: رت دیابتی + ۸ گرم عصاره آبی شنبلیله به ازای هر کیلو گرم غذا، گروه ۴: رت دیابتی + ۲ گرم عصاره آبی شنبلیله به ازای هر کیلو گرم غذا. بعد از ۴ هفته، حافظه و یاد گیری در هر یک از گروه های تحقیق با دو روش ماز آبی و شاتل باکس بررسی شد. سپس رت ها بیهوش شده و بافت ها برداشته شد. در نهایت ظرفیت آنتی اکسیدانی تام و سطح مالون دی آلدئید در هیپو کامپ اندازه گیری شد.

یافته های پژوهش: تیمار رت های دیابتی با عصاره سبب افزایش میزان آنتی اکسیدان تام و کاهش میزان پراکسید اسیون لیپیدی در بافت مغز شد و دوز ۸ گرم بر کیلوگرم، مؤثرتر از دوز ۲ گرم بر کیلو گرم بود ($p<0.05$). نتایج مربوط به بررسی حافظه فضایی با دستگاه ماز آبی نشان داد که در گروه تیمار شده، مدت زمانی که طول می‌کشد تا حیوان سکوی مخفی را پیدا کند (escape latency) و مسافتی که برای پیدا کردن سکوی مخفی طی می‌کند (travel distance) نسبت به گروه دیابتی کم تر و مدت زمان باقی ماندن در ربع هدف (time in target quadrant) در گروه تیمار نسبت به گروه دیابتی به طور معنی داری بیش تر شده بود ($p<0.05$). نتایج مربوط به بررسی حافظه احترازی غیر فعال با دستگاه شاتل باکس نشان داد که عصاره شنبلیله می‌تواند زمان ماندن در اتاقک تاریک را کاهش و زمان تاخیر در حین عبور را در موش های تیمار شده نسبت به گروه دیابتی افزایش دهد ($p<0.05$).

بحث و نتیجه گیری: تجویز عصاره شنبلیله بر توانایی نگه داری اطلاعات درانبار های حافظه و یاد آوری آن ها موثر است و موجب افزایش سطح آنتی اکسیدان در رت های دیابتی می گردد و مکانیسم مربوطه ، می تواند ممانعت از تخریب سلول های عصبی در هیپو کامپ به خاطر ظرفیت آنتی اکسیدان این گیاه باشد.

واژه های کلیدی: دیابت ملیتوس، استرس اکسیداتیو، عصاره شنبلیله، حافظه، یاد گیری

* **نویسنده مسئول:** گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد همدان، همدان، ایران

Email: kassaee2001@yahoo.com

مقدمه

دیابت یکی از شایع ترین اختلالات متابولیکی بوده که شیوع آن در جوامع مختلف رو به افزایش است. این بیماری با عوارض مختلفی در اندام های بدن همراه است(۱). عوارض نورولوژیک متعددی ناشی از دیابت در دستگاه عصبی مرکزی و محیطی رخ می‌دهد. مطالعات وجود ضایعات ساختمانی و الکترو-فیزیولوژیکی مرکزی در افراد مبتلا به دیابت را گزارش کرده اند. از عوارض دیگر عصبی مهم مرتبط با دیابت، وجود اختلال در یادگیری و حافظه است. گزارش شده است که در دیابت القاء شده در مدل حیوانی توسط استرپتوزو توسین(STZ)، اختلالات یادگیری و حافظه دیده می شود (۲). مطالعات مختلف نشان داده اند که دیابت به طور عمده با اختلالات دژنراتیو و عملکردی سیستم عصبی مرکزی همراه است و شواهد متعدد تایید کننده این امر هستند که مسیری که از آن طریق آثار مخرب عصبی دیابت شروع می‌شود، استرس اکسیداتیو است. گونه های اکسیژن فعال (ROS) که از رادیکال‌های آزاد اکسیژن و دیگر ترکیبات شیمیایی تشکیل شده، می توانند سبب پیشرفت استرس اکسیداتیو در بدن (۳) و در نهایت سبب مرگ نورونی گردند که باعث نورو پاتولوژی مرتبط با دیابت می‌شود که تاثیر مستقیمی بر روی حافظه و یادگیری افراد دیابتی دارد (۴). با توجه به عوارض متعدد دارو های شیمیایی، امروزه تمایل زیادی برای استفاده از گیاهان دارویی جهت درمان اختلالات شناختی و یادگیری وجود دارد. شنبلیله با نام علمی -*Trigonella foenum graceum L* یک گیاه علفی یک ساله از تیره *Legouminosae* است که بومی شرق مدیترانه است. این گیاه در طب سنتی مصارف زیادی دارد. ترکیبات موجود در این گیاه فلاونوییدهایی مانند Orientin، Vitexinو Quercetin و آلکالوییدها مانند Carpaine، Choline و Gentanin تاثیرات مهمی در کاهش اثرات رادیکال های آزاد دارند (۵). بنا بر این انتظار می رود این گیاه بر روی اثرات ناشی از دیابت بر روی حافظه و یادگیری اثر مثبت داشته و ممکن به عنوان یک راه درمانی مناسب برای این بیماری ارائه گردد. لذا هدف از این مطالعه اثر شنبلیله بر حافظه و یادگیری و ظرفیت آنتی اکسیدان در هیپوکمپ رت های دیابتی تیپ II بود.

مواد و روش ها:

این پژوهش از نوع تجربی بود که بر روی ۲۴ رت نر با میانگین وزنی ۲۰۰ گرم و سن ۶ هفته انجام شد. ابتدا رت‌ها در اتاق حیوانات به مدت ۱۰ روز جهت سازگاری با محیط جدید با غذای استاندارد و چرخه تاریکی- روشنایی طبیعی (۱۲ساعت/۱۲ ساعت) و تهویه مناسب نگه داری شدند. سپس رت ها به طور تصادفی به ۴ گروه ۶ تایی به شرح زیر تقسیم شدند: ۱) گروه کنترل + نرمال سالین ۲) گروه دیابتی + ۸ گرم عصاره آبی شنبلیله به ازای هر کیلو گرم غذا ۳) گروه دیابتی + ۲ گرم عصاره آبی شنبلیله به ازای هر کیلو گرم غذا ۴) گروه دیابتی.

تهیه عصاره ها: گیاه شنبلیله از بازار تهیه و به صورت پودر درآورده شد. سپس ۵۰ گرم از پودر در یک ارلن ریخته و به آن ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر که دمای آن به ۴۰ درجه سانتی گراد رسیده بود، اضافه گردید. سپس به مدت ۴۸ ساعت بر روی روتاتور در شرایط تاریکی و در حرارت اتاق قرار داده شد. عصاره‌های به دست آمده از کاغذ صافی، عبور داده شد. محلول حاصل در انکوباتور ۴۰ درجه تحت شرایط سترون خشک گردید(۶).

دیابتی کردن رت ها: جهت القاء دیابت به رت‌ها، استرپتوزوتوسین (65mg/kg/bw) و نیکوتین آمید (110mg/kg/bw) در سرم فیزیولوژی سرد حل به صورت درون صفاقی تزریق شد. پس از گذشت ۷۲ ساعت در حالی که رت‌ها به مدت ۱۲ ساعت ناشتا بودند از دم حیوانات خونگیری انجام شد و قند خون ناشتا اندازه گیری شد. قند خون ناشتای مساوی یا بیش تر از ۲۵۰mg/dl به عنوان مدل دیابتی در نظر گرفته شد (۷).

آزمون رفتار یادگیری احترازی غیر فعال: بعد از یک ماه درمان، رت های دیابتی و سالم تحت مطالعه رفتاری قرار گرفتند. در این تحقیق از روش یادگیری احترازی غیر فعال (passive avoidance) جهت ارزیابی یادگیری و حافظه استفاده گردید. دستگاه

یادگیری احترازی غیر فعال (shuttle box) شامل دو بخش روشن و تاریک است که توسط یک درب گیوتینی از هم جدا می‌شدند. جهت انجام این تست حیوان را در وضعیتی که پشتش به سمت در گیوتینی بود در داخل اتاق تاریک قرار داده شد و ۵ ثانیه بعد در گیوتینی باز شد. بعد از ورود رت به قسمت تاریک، در بسته و شوک الکتریکی با شدت ۱/۲ میلی آمپر و به مدت ۵ ثانیه به کف پای رت وارد شد. سپس رت از اتاق تاریک خارج و در قفس قرار داده شد. جهت ارزیابی حافظه، ۲۴ ساعت بعد از دریافت شوک الکتریکی حیوان دوباره در داخل اتاق روشن در حالی که دریچه بین دو اتاق باز بود، قرار داده شد و تأخیر زمانی برای اولین ورود به اتاق تاریک ثبت شد. سقف زمانی در این مرحله ۳۰۰ ثانیه بود و کلیه آزمایش ها بین ساعت ۱۲-۸ صبح انجام گردید. طولانی تر شدن تأخیر زمانی برای اولین ورود به اتاق تاریک نشانه یادگیری و حافظه بهتر بود (۸).

بررسی حافظه فضایی با دستگاه ماز آبی: برای بررسی حافظه فضایی از دستگاه ماز آبی استفاده شد. این دستگاه برای بررسی یادگیری و حافظه فضایی طراحی شده و شامل حوضچه استوانه ای سیاه رنگ با قطر ۱۸۰ سانتی متر و ارتفاع ۶۰ سانتی متر است که با آب ۱۹ درجه سانتی گراد تا ارتفاع ۲۵ سانتی متری پر می‌شود، این حوضچه به صورت فرضی به ۴ ربع دایره تقسیم شده و سکوی کوچکی از جنس پلکسی گلاس با قطر۱۰ سانتی متر زیر سطح آب در مر کز یکی از ۴ ربع دایره قرار دارد که حیوان می تواند برای فرار از آب خود را به روی آن برساند. برای ارزیابی حافظه فضایی از سه ملاک استفاده شد: ۱) مدت زمانی که طول می‌کشد تا سکو مخفی را پیدا کند (escape latency)، ۲) مسافتی که رت برای پیدا کردن سکوی مخفی طی می‌کند (travel distance) ۳) مدت زمان باقی ماندن در ربع هدف (time in target quadrant) (۸).

اندازه گیری مالون دی آلدهید: مالون دی آلدهید توسط روش تیو باربیتوریک اسید، به مانند آن چه Placer و همکاران شرح دادند، اندازه گیری شد. ۱۰۰ میلی گرم از نمونه های فریز شده پس از هموژنیزه کردن، در دمای اتاق انکوبه و سپس با ۲/۵ میلی لیتر تری کلرو استیک اسید ۲۰ درصد و ۱ میلی لیتر تیو باربیتوریک اسید ۰/۶۷ درصد مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم (۹۵ درجه سانتی گراد) قرار داده شد. پس از سرد کردن، ۴ میلی لیتر از بوتانول نرمال به مخلوط اضافه و برای مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰ سانتریفوز شد. محلول رویی جدا سازی و جذب نوری آن توسط دستگاه اسپکترو فتومتر مدل JENWAY 6105 UV/Vis در طول موج ۵۳۲ نانو متر در مقابل بوتانول نرمال اندازه گیری شد. نتایج حاصل پس انتقال بر منحنی استاندارد بر حسب نانومول بر میلی گرم پروتئین بیان شد(۹).

اندازه گیری میزان آنتی اکسیدان: اندازه گیری میزان آنتی اکسیدان با روش دستی (FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power) انجام شد. در این روش ترکیبات آنتی اکسیدان با احیای یون فریک باعث ایجاد رنگ شده که میزان جذب نور با دستگاه اسپکترو فتومتری در طول موج ۵۹۳ نانو متر اندازه گیری می‌شود (۱۰).

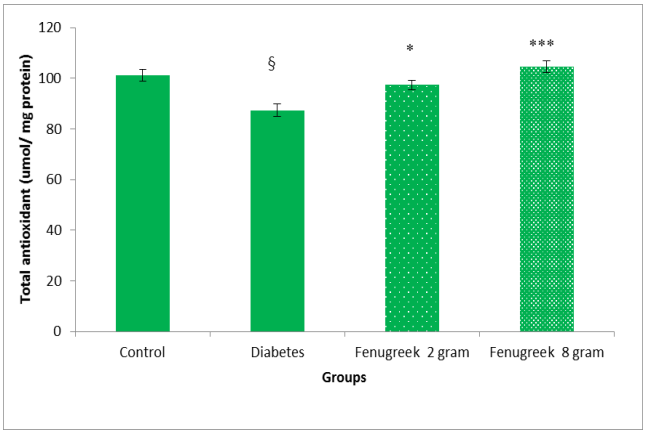
واکنش گر FRAP با مخلوط کردن ۲۵ میلی لیتر استات بافر۳۰۰ میلی مولار (pH=۳/۶)، ۵/۲ میلی لیتر محلول ۱۰ میلی مولار تری پیریدیل تیازین و ۲/۵ میلی لیتر کلرید فریک هگزا هیدراته ۴۰ میلی مولار و محلول کلرید فریک هگزا هیدراته ۲ میلی مولار تهیه شد و قبل از استفاده به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری با دمای ۳۷ درجه نگه داری شد. از محلول آبی سولفات آهن شش آبه برای رسم منحنی استاندارد استفاده شد. جذب نوری نمونه ها (۵۰ میکرو لیتر نمونه به همراه ۱/۵ میلی لیتر واکنش گر) در طول موج مذکور قرائت و اعداد پس از انتقال بر منحنی استاندارد بر اساس میکرو مول سولفات آهن در میلی گرم پروتئین محاسبه شدند.

تحلیل آماری:

تحلیل و مقایسه ی میانگین ها با استفاده از نرم افزار SPSS 18 در سطح معنی داری ($p<0.05$) و با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه ی ANOVA و تست Tukey انجام شد.

یافته های پژوهش:

تأثیر شنبلیله بر وزن بدن و شاخص‌های آنتی اکسیدانی: وزن رت ها در گروه دیابتی در مقایسه با رت های نرمال افزایش یافت ($p<0.01$) و تیمار رت ها با عصاره شنبلیله با دوز ۲ و ۸ گرم به ازای هر کیلو گرم غذا سبب کاهش وزن رت های دیابتی شد ($p<0.01$) . میزان پر اکسیداسیون لیپیدی در رت ها در گروه دیابتی در مقایسه با رت‌های نرمال افزایش یافت ($p<0.01$) و تیمار رت ها با عصاره شنبلیله با دوز ۲ و ۸ گرم به ازای هر کیلو گرم غذا سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی(مالون دی آلدهید) در رت های دیابتی شد (به ترتیب ($p<0.01$) و ($p<0.001$). سطح آنتی اکسیدانی تام (TAC) در رت ها در گروه دیابتی در مقایسه با رت های نرمال کاهش یافت ($p<0.01$) و تیمار رت‌ها با عصاره شنبلیله با دوز ۲ و ۸ گرم به ازای هر کیلو گرم غذا سبب افزایش سطح آنتی اکسیدانی تام (TAC) در رت های دیابتی شد(به ترتیب ($p<0.05$) و ($p<0.01$)) (نمودار ۱).



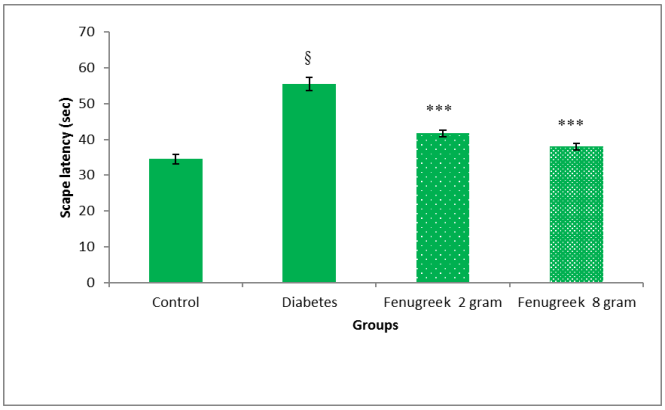
نمودار ۱ : تأثیر مصرف شنبلیله (Fenugreek) با دوزهای ۲ و ۸ گرم، بر روی میزان سطح آنتی اکسیدانی تام (TAC) در هیپو کامپ گروه های مورد مطالعه . داده ها به صورت Mean ±SEM نشان داده شده اند. تفاوت گروه مصرف کننده عصاره شنبلیله در مقایسه با گروه دیابتی معنی دار است. معنی داری به صورت $P<0.05$* و $P<0.01$ و $P<0.001$*** در مقایسه با گروه دیابتی و $^{\$}P<0.05$ در مقایسه با گروه کنترل نمایش داده شده است.**

نتایج مربوط به بررسی حافظه فضایی با دستگاه ماز آبی

- مدت زمانی که طول می‌کشد تا سکوی مخفی را پیدا کند (Escape Latency)
- مسافتی که رت برای پیدا کردن سکوی مخفی طی می‌کند (Travel Distance)
- مدت زمان باقی ماندن در ربع هدف (Time in Target Quadrant)

مدت زمانی که طول می‌کشد تا سکوی مخفی را پیدا کند

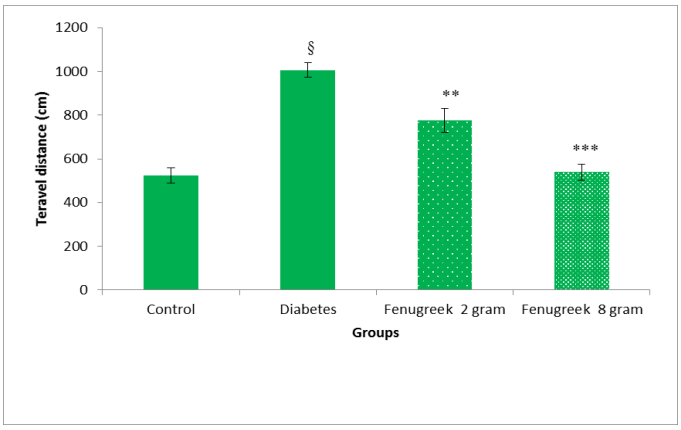
در گروه تیمار شده با شنبلیله مدت زمانی که طول می-کشد تا رت ها سکوی مخفی را پیدا کنند به طور معنی داری کم تر از گروه دیابتی بود (نمودار۲).



نمودار۲: تأثیر مصرف شنبلیله (Fenugreek) با دوزهای ۲ و ۸ گرم، بر روی مدت زمانی که طول می‌کشد تا سکوی مخفی را پیدا کند (escapelatency) در گروه های مورد مطالعه . داده‌ها به صورت Mean ±SEM نشان داده شده اند. تفاوت گروه مصرف کننده عصاره شنبلیله در مقایسه با گروه دیابتی معنی دار است. معنی داری به صورت P<0.05*و P<0.01و P<0.001*** در مقایسه با گروه دیابتی و $^{\$}$P<0.05 در مقایسه با گروه کنترل نمایش داده شده است.**

مسافتی که رت برای پیدا کردن سکوی مخفی طی می‌کند

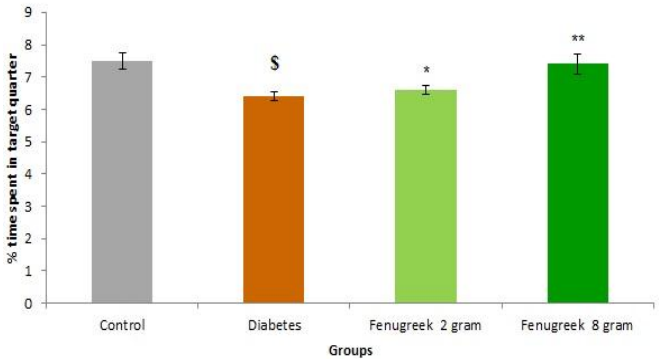
بر اساس نمودار ۳، مسافتی که رت برای پیدا کردن سکوی مخفی طی می‌کند در گروه های تیمار شده با عصاره نسبت به گروه دیابتی به طور معنی داری کم تر است.



نمودار ۳: تأثیر مصرف شنبلیله (Fenugreek) با دوزهای ۲ و ۸ گرم، بر روی مسافتی که رت برای پیدا کردن سکوی مخفی طی می‌کند (travel distance) در گروه های مورد مطالعه . داده ها به صورت Mean ±SEM نشان داده شده اند. تفاوت گروه مصرف کننده عصاره شنبلیله در مقایسه با گروه دیابتی معنی دار است. معنی داری به صورت P<0.05*و P<0.01و P***<0.001 در مقایسه با گروه دیابتی و $^{\$}$P<0.05 در مقایسه با گروه کنترل نمایش داده شده است**

مدت زمان باقی ماندن در ربع هدف

مدت زمان باقی ماندن در ربع هدف در گروه های تیمار شده با عصاره شنبلیله نسبت به گروه دیابتی بیشتر می‌باشد (نمودار۴).

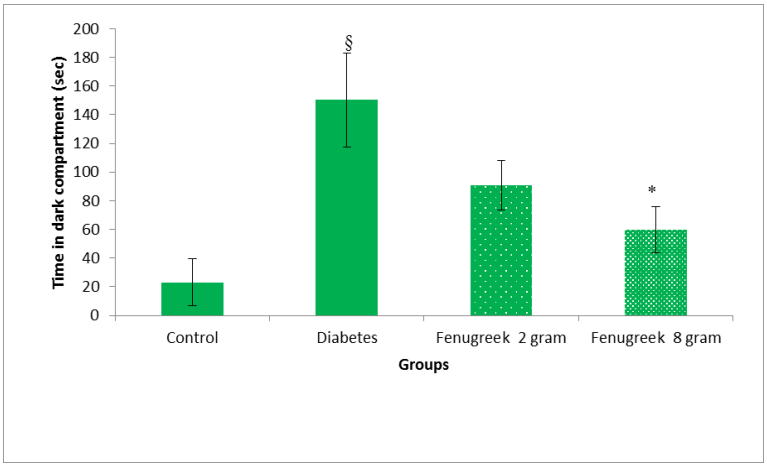


نمودار٤: تأثیر مصرف شنبلیله (Fenugreek) با دوزهای ۲ و ۸ گرم، بر روی مدت زمان باقی ماندن در ربع هدف (time in target quadrant) در گروه های مورد مطالعه. داده‌ها به صورت Mean ±SEM نشان داده شده اند. تفاوت گروه مصرف کننده عصاره شنبلیله در مقایسه با گروه دیابتی معنی دار است. معنی داری به صورت P<0.05*و P<0.01و P<0.001*** در مقایسه با گروه دیابتی و $P<0.05 در مقایسه با گروه کنترل نمایش داده شده است.**

نتایج مربوط به بررسی حافظه احترازی غیر فعال با دستگاه شاتل باکس

نتایج مربوط به زمان ماندن در اتاقک تاریک

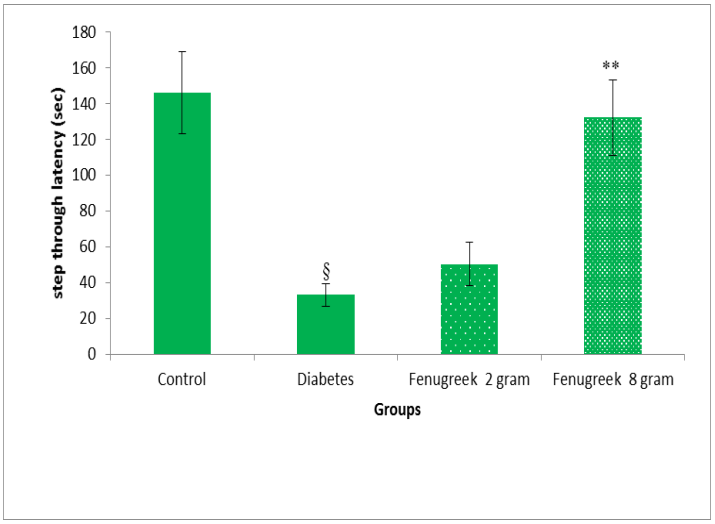
نتایج نشان می‌دهند که عصاره شنبلیله سبب کاهش زمان ماندن در اتاقک تاریک در گروه های تیمار شده نسبت به گروه دیابتی می شود (نمودار ۵).



نمودار ۵ : تأثیر مصرف شنبلیله (Fenugreek) با دوزهای ۲ و ۸ گرم، بر روی زمان ماندن در اتاقک تاریک در گروه‌های مورد مطالعه. داده ها به صورت Mean ±SEM نشان داده شده‌اند. تفاوت گروه مصرف کننده عصاره شنبلیله در مقایسه با دیابتی معنی دار است. معنی داری به صورت P<0.05*و P<0.01و P<0.001*** در مقایسه با گروه دیابتی و $P<0.05 در مقایسه با گروه کنترل نمایش داده شده است**

نتایج مربوط به سنجش زمان تأخیر

از نظر یاد گیری و حافظه نیز کاهش معنی دار در تاخیر حین عبور (که شاخصی از توانایی حیوان برای ذخیره سازی اطلاعات و یاد آوری آن ها است) در موش های دیابتی در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد. این زمان در گروه تیمار شده، بیش از گروه دیابتی بود (نمودار ۶).



نمودار ٦ : تأثیر مصرف شنبلیله (Fenugreek)با دوزهای ۲ و ۸ گرم، بر روی سـنجش زمـان تـأخیر در گروه‌های مورد مطالعه. داده ها به صورت Mean ±SEM نشان داده شده اند. تفاوت گروه مصرف کننده عصاره شنبلیله در مقایسه با گروه دیابتی معنی دار است. معنی داری به صورت P<0.05*و P<0.01و P<0.001*** در مقایسه با گروه دیابتی و $^{\$}$P<0.05 در مقایسه با گروه کنترل نمایش داده شده است.**

بحث و نتیجه گیری

نتایج مطالعات مختلف نشان داده اند که دیابت سبب تغییرات ساختمانی و عملکردی در سیستم اعصاب مرکزی و محیطی از جمله کاهش سرعت هدایت پیام عصبی، اختلال در روند بازسازی اعصاب محیطی بدن و تغییر شکل در فیبر های عصبی می شود(۱۱). هم چنین مشخص شده است که دیابت یکی از عوامل ایجاد صدمه به حافظه می باشد، که از علایم متظاهر در بیماری آلزایمر محسوب می گردد(۱۲). نتایج مطالعه حاضر نشان دهنده اختلال در حافظه گروه دیابتی نسبت به گروه طبیعی بود. دیابت موجب افزایش وزن رت های دیابتی و عصاره شنبلیله به طور معنی داری سبب کاهش وزن در گروه های تیمار شده نسبت به گروه دیابتی شد. در تمامی گروه های دیابتی با استرپتوزو توسین و نیکوتین آمید، میزان وزن رت ها پس از دیابتی شدن افزایش یافت در حالی که با مصرف شنبلیله با دوز کم و زیاد، وزن رت ها پس از چهار هفته تجویز، در مقایسه با گروه دیابتی کاهش یافتند. نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعه Handa و همکاران که در آن تأثیر عصاره شنبلیله روی بافت های مختلف باعث کاهش وزن می شد، هم خوانی دارد (۱۳).

هیپر گلیسمی در شرایط دیابتی باعث افزایش جریان الکترون در میتوکندری شده که باعث مهار کمپلکس III میتوکندری و در نتیجه افزایش تولید رادیکال سوپر اکسید می شود(۱۴). مطالعه Annida و همکاران نشان داد که عصاره شنبلیله سبب کاهش شاخص میزان اکسید اسیون لیپیدی در بافت های کبد، کلیه و قلب رت های دیابتی با استرپتو زوسین می شود (۱۵) . نتایج مطالعه Belguith و همکاران نیز نشان از اثر کاهندگی میزان پراکسید اسیون لیپیدی توسط عصاره شنبلیله در رت های تغذیه شده با رژیم غنی از کلسترول داشت (۱۶). در مطالعه حاضر، عصاره شنبلیله سبب کاهش میزان پراکسید اسیون لیپیدی در گروه های تیمار شد. میزان کاهندگی در دوز ۸ گرم شنبلیله به ازای هر کیلو گرم غذا نسبت به دوز ۲ گرم بیش تر بود.

Annida و همکاران نشان دادند که تزریق عصاره شنبلیله باعث بهبود فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی مانند سوپر اکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پر اکسیداز و کاتالاز می شود (۱۵). در مطالعه Bukhari و همکاران، قدرت آنتی اکسیدانی عصاره شنبلیله و افزایش میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی تام را گزارش کردند (۱۷). به منظور بررسی تاثیر ظرفیت آنتی اکسیدانی تام در اثر مصرف عصاره شنبلیله و شناخت

ارتباط آن با کاهش حافظه و یاد گیری، در پژوهش حاضر ظرفیت آنتی اکسیدانی تام در هیپوکامپ رت-های دیابتی تیمار شده را با دوزهای ۲ و ۸ میلی گرم شنبلیله در کیلو گرم غذا، بررسی شد . در این تحقیق از آزمایش توانایی احیا کنندگی آهن (FRAP) استفاده گردید. نتایج مطالعه اخیر، افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام در هیپو کامپ رت های دیابتی درمان شده با عصاره شنبلیله در مقایسه با گروه درمان نشده، نشان داد.

مطالعات مختلف ارتباط بین دیابت و کمبود در یاد گیری و حافظه را نشان داده اند. با این حال، مکانیزم-های اختلال در توانایی‌های شناختی در دیابت مشخص نشده است. دیابت با تأثیر بر شکنج دندانه - دار هیپوکامپ موجب اختلال در روند های شناختی و یاد گیری می‌گردد (۱۱) . در دیابت مکانیسم های مختلفی جهت اختلال در حافظه و یاد گیری پیشنهاد شده است که برخی از آن‌ها شامل : ۱) استرس اکسیداتیو ناشی از تشدید تشکیل رادیکال های آزاد اکسیژن ۲) کاهش بارز تراکم نورونی در ناحیه شکنج دندانه دار که نقش مهمی در روند حافظه و یاد گیری فضایی ایفا می‌نماید ۳) کاهش بیان آنزیم نیتریک اکسید سنتاز نورونی که نقش مهمی در پلاستیسیته سیناپسی و روند یاد گیری و حافظه ایجاد می کند. بنا بر این دیابت باعث تغییرات ساختمانی و عملکردی در سیستم اعصاب مرکزی و محیطی از جمله کاهش سرعت هدایت پیام عصبی، اختلال در روند بازسازی اعصاب محیطی بدن، و تغییر شکل در فیبر های عصبی می شود . لذا با توجه به این یافته‌ها، دیابت سبب کاهش اختلال حافظه و یاد گیری می شود (۱۸). در مطالعه Ooiyi Min و همکاران، عصاره شنبلیله سبب شد که میزان شناخت و هم چنین Latency of entering time در گروه تیمار شده با عصاره نسبت به گروه کنترل دیابتی افزایش داشته باشد که با نتایج از مطالعه حاضر هم خوانی دارد (۱۹). در مطالعه مشابه مقدم و همکاران در موش‌های دیابتی، عصاره شنبلیله دارای اثر ضد نوروپاتی و بازیابی عملکرد رشته‌های عصبی می‌باشد(۲۰). Zhou و همکاران تأثیر تریژونلین که ماده موثره گیاه شنبلیله است را روی بیماری های سیستم عصبی مرکزی ایجاد شده با دیابت را مطالعه و اعلام کردند که این ماده در بیماری دیابت خواص حفاظتی بر روی اعصاب داشته و در نهایت سبب بهبود عملکرد حافظه می‌گردد (۲۱). در مطالعه روغنی و همکاران، تأثیر عصاره زرد چوبه با خواص آنتی اکسیدانی بسیار قوی روی حافظه و یاد گیری، در موش های دیابتی شده، مشخص شد که تجویز دراز مدت کورکومین (ماده موثره زرد چوبه) به میزان ۵۰ میلی گرم بر کیلو گرم موجب تقویت توانایی نگه داری اطلاعات در انبار حافظه و به یاد آوری در حیوانات دیابتی شده و بهبود حافظه فضایی کوتاه مدت را سبب می‌شود (۲۲). در مطالعه حاضر نیز مدت زمانی که طول کشید تا رت، سکوی مخفی را پیدا کند و مسافتی که رت برای پیدا کردن سکوی مخفی طی می‌کند، کاهش و مدت زمان باقی ماندن در ربع هدف در گروه تیمار شده نسبت به گروه دیابتی افزایش یافت. هم چنین عصاره موجب بهبود حافظه فضایی در موش های دیابتی نیز شد که این نتایج در گروه های تیمار شده نسبت به گروه کنترل دیابتی معنی دار بود. اثرات سودمند شنبلیله روی هیپوکمپ رت های دیابتی در این نتایج این تحقیق مشخص گردید و داده ها به وضوح اثرات مفید آن را به دلیل کاهش استرس اکسیداتیو و افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی تام در بافت هیپوکامپ را نشان دادند. مطالعه اخیر تأثیرات مثبت درمان با عصاره شنبلیله بر حافظه و یادگیری موش های دیابتی را نشان داد و جلوگیری از تخریب سلول های عصبی در هیپوکامپ، می تواند به دلیل فعالیت آنتی اکسیدان این گیاه باشد.

سپاسگزاری:

این مقاله منتج از پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد می باشد. بدینوسیله از همکاری حوزه معاونت پژوهشی و اداری مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد همدان تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1.Evert AB, Boucher JL, Cypress M, Dunbar SA, Franz MJ, Mayerdavis EJ, et al. Nutrition therapy recommendations for the management of adults with diabetes. Diabetes Care2013;36:3821-42.

2. Tan MY. The relationship of health beliefs and complication prevention behaviors of Chinese individuals with Type 2 Diabetes Mellitus. Diabetes Res Clin Pract2004;66:71-7.

3.Montilla P, Barcos M, Munoz MC, Bujalance I, Munozcastaneda JR, Tunez I. Red wine prevents brain oxidative stress and nephropathy in streptozotocin-induced diabetic Rats. J Biochem Mole Biol2005;38:539.

4.Kashihara N, Haruna Y, Kondeti V, Kanwar Y. Oxidative stress in diabetic nephropathy. Curr Med Chem2010;17:4256.

5.Smith M. Therapeutic applications of fenugreek. Alt Med Rev2003;8:20-7.

6.Mohammadi A, Mirzaei F, Moradi M, Jamshidi M, Ghiasvand T, Yari R, et al. Effect of flaxseed on serum lipid profile and expression of NPC1L1, ABCG5 and ABCG8 genes in the intestine of diabetic rat. Avi J Med Biochem2013;1:1-6.

7.Xu X, Xiao H, Zhao J, Zhao T. Cardioprotective effect of sodium ferulate in diabetic rats. Int J Medical Sci2012;9:291.

8.Mirzaei F, Soleimani Asl S, Shahidi S, Shariati H, Bakhtiar M, Mehdizadeh M, et al. Chronic and sub acute effects of 3, 4-methylenedioxy methamphetamine on spatial memory and passive avoidance learning in wistar Rats. Anatom Sci J2013;10:24-8.

9.Sadeghi AA, Izadi W, Shawrang P, Chamani M, Aminafshar M. Total antioxidant capacity and malondialdehyde level in plasma of broiler chicks fed diet containing different levels of ginger. Iranian J Appl Anim Sci 2013; 3: 283-7.

10.Jariyapamornkoon N, Yibchokanun S, Adisakwattana S. Inhibition of advanced glycation end products by red grape skin extract and its antioxidant activity. BMC Comple Alt Med 2013;13: 171-5.

11.Jacksonguilford J, Leander JD, Nisenbaum LK. The effect of streptozotocin-induced diabetes on cell proliferation in the rat dentate gyrus. Neurosci let2000;293:91-4.

12.Galer BS, Gianas A, Jensen MP. Painful diabetic polyneuropathy: epidemiology , pain description, and quality of life. Diabetes Res Clin pract2000;47:123-8.

13.Handa T, Yamaguchi K, Sono Y, Yazawa K. Effects of fenugreek seed extract in obese mice fed a high-fat diet. Bioscience, biotechnology, and biochemistry2005; 96: 1186-8.

14.Du X-L, Edelstein D, Rossetti L, Fantus IG, Goldberg H, Ziyadeh F, et al. Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation. Proce National Acad Sci 2000;97:12222-6.

15.Annida B, Prince PSM. Supplementation of fenugreek leaves reduces oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. J Med Food2005; 2:131-7.

16.Belguithhadriche O, Bouaziz M, Jamoussi K, Elfeki A, Makniayedi F. Renoprotective effects of fenugreek seeds against oxidative stress in hypercholesterolemic fed Rats. J Med Food2014;8:382-5.

17.Bukhari SB, Bhanger MI, Memon S. Antioxidative activity of extracts from fenugreek. Pak J Anal Environ Chem Vol2008;9:78-83.

18.Biessels GJ, Staekenborg S, Brunner E, Brayne C, Scheltens P. Risk of dementia in diabetes mellitus a systematic review. Lancet Neurol2006;5:64-74.

19.Min Oy. Effect of fenugreek seeds on short term memory and morphology of cornu ammonis in female Mice. Unii Tunku Abdul Rahman J2011;5:22-34.

20.Moghadam FH, Vakilizarch B, Shafiee M, Mirjalili A, Yazd I. Fenugreek seed extract treats peripheral neuropathy in pyridoxine induced neuropathic mice. Exp Clin Sci2013;12:282-90.

21.Zhou J, Chan L, Zhou S. Trigonelline a plant alkaloid with therapeutic potential for

diabetes and central nervous system disease. Curre Med Chem 2012;19:3523-31.
22.Roghani M, Baluchnejadmojarad T. [Antinociceptive effect of curcumin, an effective constituent of turmeric in diabetic Rats and Evaluation of the involvement of lipid peroxidation]. Modares J Med Sci Pathobiol 2012;15:23-32.(Persian)

Effect of *Fenugreek* on Memory and Learning and also Antioxidant Capacity in Hippocampus of Type II Diabetic Rats

*Moein M[1], Kassaee M [1]**

(Received: November 8, 2015 Accepted: April 20, 2016)

Abstract

Introduction: Based on the evidences of curing effects of fenugreek on diabetes and its role in strengthening memory and mental health, this study investigated administration of fenugreek extract on learning and memory and also antioxidant level in the hippocampus in type 2 diabetic rats.

Materials & methods: In this study, 24 male rats were divided into 4 groups. Group 1 or control, Group II or diabetic, Group III: diabetic rats treated with 8 gram fenugreek / kg diet, Group IV: diabetic rats treated with 2 gram fenugreek / kg diet. After four weeks, learning and memory were determined using water maze and shuttle box tests. After that, the rats were anesthetised and tissues were removed. Finally, total antioxidant capacity and malondialdehyde were determined in hippocampus.

Findings: Treating diabetic rats with fenugreek extract caused increasing the total antioxidants levels and decreasing the amount of lipid peroxidation in the brain tissue and the dose of 8g/kg was more effective than 2g/kg ($p<0.05$). The results of studying spatial memory by water maze suggested that the amount of time it takes for the animal to find the hidden platform (escape latency), the distance to find a hidden platform (travel distance) were decreased, and the time remaining in the target quadrant (time in target quadrant) in the treatment group was significantly increased compared to the diabetic one ($p<0.05$). The results of Passive-avoidance response and memory with shuttle box were showed that Fenugreek extract could reduced the time of remaining in a dark room and increased the step through latency in treated rats compared to diabetic ones ($p<0.05$).

Discussion & conclusions: Administration of *Fenugreek* is effective in the capability of maintaining information in the memory stores and reminding them and also increased antioxidant levels in the diabetic rats and relayed mechanism can be prevention of neural cell destruction in hyppocampus due to antioxidant capacity of this plant.

Keywords: Diabetes, Oxidative stress, Fenugreek extract, Memory, Learning

Dept of Biology, Faculty of Basic Science, Islamic Azad University, Hamedan Branch, Hamedan, Iran
**Corresponding Author: E mail: kassaee2001@yahoo.com*