مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۲، شماره۵، آذر و دی ۱۳۹۶(شماره پی در پی۱۲٤)

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 3:20 +0430 on Sunday April 21st 2019

# تأثیر عصاره گیاه کاکوتی بر اختلال ایجاد شده در حافظه فضایی ناشی از تزریق داخل بطنی استرپتوزتوسین در رت‌های نر

**شیما محمدی*، محمدحسین محمدی مهدی آبادی حسنی**

گروه علوم جانوری، دانشگاه خوارزمی( تربیت معلم)، تهران، ایران

تاریخ وصول : ۱۳۹۵/۷/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۷/۲۶

**چکیده:**

**زمینه و هدف:** بیماری آلزایمر از شایع‌ترین بیماری‌های نورودژنراتیو مغز می‌باشد و با اختلال سیگنالینگ انسولین و متابولیسم گلوکز در ارتباط است. گیاه کاکوتی دارای اثرات ضددیابت، آنتی اکسیدان و تقویت کنندگی حافظه است. به همین دلیل، هدف مطالعه حاضر بررسی اثر عصاره هیدروالکلی گیاه دارویی کاکوتی بر روند پیشرفت بیماری آلزایمر بود.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی، تعداد ۴۲ سر رت نر از نژاد ویستار، با وزن تقریبی ۲۰±۲۷۰ گرم در۵ گروه شامل؛ کنترل، شم، آلزایمر، آلزایمر و سالین و آلزایمر به همراه کاکوتی (۳ زیرگروه) تقسیم شدند. جهت ایجاد مدل آلزایمری در رت، داروی استرپتوزوتوسین به درون بطن های مغزی تزریق گردید و پس از آن به مدت ۲۱ روز رت های آلزایمری تحت درمان با عصاره گیاه کاکوتی(۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به صورت تزریق داخل صفاقی قرار گرفتند. جهت ارزیابی یادگیری و حافظه از آزمون ماز آبی موریس استفاده شد. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و توکی تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین موجب آسیب شدید حافظه گردید. در رت‌های آلزایمری تیمار شده با کاکوتی به مدت ۲۱ روز (۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با رت‌های آلزایمری، به طور معنی‌داری از کاهش حافظه فضایی پیشگیری شد. در مرحله یادگیری آزمون ماز آبی موریس، رت‌های دریافت کننده عصاره کاکوتی نسبت به گروه کنترل طی زمان و مسافت کمتری سکوی فرار مخفی را پیدا کردند و هم‌چنین ۵ روز پس از یادگیری، در فاز یادآوری، زمان بیشتری را در ربعی که قبلاً سکوی فرار قرار داشت، گذراندند.

**نتیجه‌گیری:** تیمار رت‌ها با عصاره آبی الکلی گیاه کاکوتی از کاهش حافظه فضایی در طی بیماری آلزایمر پیشگیری می‌کند. عصاره این گیاه می‌تواند با تأثیر مثبت بر عملکردهای عصبی موجب بهبود روندهای شناختی گردد و احتمالاً در پیشگیری و درمان برخی از اختلالات عصبی نقش بارزی داشته باشد.

**واژه‌های کلیدی**: آلزایمر، کاکوتی، استرپتوزوتوسین، یادگیری، حافظه

* **نویسنده مسئول: شیما محمدی،** تهران، دانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم زیستی، گروه علوم جانوری
**Email:** shimamohamadi1365@gmail.com

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 3:20 +0430 on Sunday April 21st 2019

**مقدمه**

بیماری آلزایمر(AD)[1] بیماری پیش رونده مغزی است و علت شایع زوال عقل است(۱). در سطح سلولی، آلزایمر با از دست دادن سلول‌های عصبی قشر مغز، سلول‌های هرمی ویژه که واسطه عملکرد شناختی بالاتر هستند مشخص می‌شود(۲). آسیب عصبی در آلزایمر مربوط به پروتئین غیر طبیعی در داخل و خارج سلول عصبی است. این‌ها ضایعات پاتولوژیک مشخصه AD هستند، که پلاک نامیده می‌شوند. پروتئین‌های غیر طبیعی در کورتکس مغز یک الگوی کلیشه‌ای گسترده در امتداد راه‌های عصبی را نشان می‌دهد که میانجی‌گری حافظه و دیگر عملکردهای شناختی است. پلاک‌های پیری تجمع های خارج سلولی پروتئین آمیلوئید هستند و شامل پروتئین بتا آمیلوئید نامحلول(Aβ)[2] می‌باشند(۳). پلاک‌های آمیلویید هم‌چنین در اثر پردازش ناقص پروتئین پیش ساز آمیلویید بتا(APP)[3] به وسیله خانواده آنزیمی سکرتازها به خصوص بتا سکرتاز تشکیل می‌شوند(۴). استرس اکسیداتیو زمانی رخ می‌دهد که بین تولید و دفع رادیکال‌های آزاد از گونه‌های اکسیژن عدم تعادل به وجود بیاید. این گونه‌های اکسیژن فعال(ROS)[4] نقش مهمی در بسیاری از بیماری‌های مزمن از جمله بیماری‌های میتوکندری، بیماری‌های عصبی، بیماری‌های کلیوی، تصلب شرایین، دیابت و سرطان بازی می‌کنند(۵). استرس اکسیداتیو نقش محوری را در پاتوژنز آلزایمر از طریق عملکرد نورونی و مرگ سلولی بازی می‌کند(۶). یک مطالعه پیشنهاد می‌کند که سطح نشانگر اکسیداتیو، به طور مستقیم به شدت اختلال شناختی مرتبط است(۷). افزایش سطح استرس اکسیداتیو در مغز افراد مبتلا به آلزایمر به وسیله افزایش پروتئین و اکسیداسیون DNA، پراکسیداسیون لیپیدی افزایش یافته، کاهش سطح سیتوکروم C اکسیداز و گلیکوزیلاسیون پیشرفته محصولات نهایی منعکس می‌شود(۸). در چند دهه اخیر تحقیق های گسترده‌ای به منظور دستیابی به روش‌های درمانی مناسب از یک سو و بررسی علل و عوامل ایجاد کننده آلزایمر از سوی دیگر صورت گرفته است و هم‌چنان ادامه دارد. نتایج حاصل این تحقیق های نشان می‌دهد که مواد دارای آنتی‌اکسیدان می‌توانند نقش مهمی در کاهش علایم آلزایمر بازی کنند. آنتی‌اکسیدان‌ها از عملکرد رادیکال‌های آزاد جلوگیری کرده و می‌توانند در پیشگیری و درمان بیماری آلزایمر مفید واقع شوند. روش‌هایی که در حال حاضر برای درمان دیابت غیر وابسته به انسولین استفاده می‌شوند، مانند تغییر رژیم غذایی و عوامل هیپوگلیسمیک خوراکی، محدودیت‌های خاص خود را دارند(۹). با توجه به افزایش دانش بشری در مورد هتروژنیته این بیماری، نیاز برای یافتن ترکیب‌های مؤثر با عوارض جانبی کمتر در پیشگیری و درمان دیابت احساس می‌گردد. گیاهان دارویی و مشتق‌های آنها اگر چه از دیر باز در درمان دیابت قندی و عوارض ناشی از آن مطرح بوده اند،

1- Alzheimer's Disease
2-Amyloid Beta
3-Amyloid precursor protein
4-Reactive Oxygen Species

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 3:20 +0430 on Sunday April 21st 2019

ولی در مورد اثر بخشی قطعی بسیاری از آنها تاکنون شواهد تحقیقاتی و معتبر یافت نشده است(۱۰).

گیاهان دارویی نقش مهمی در درمان بیماری‌ها و بهبود اختلالات بازی می‌کنند و هنوز سیستم طب سنتی در سراسر جهان از اهمیت به سزایی برخوردار است (۱۱). گیاه کاکوتی با نام علمی *Ziziphora* متعلق به خانواده نعناعیان (*Lamiaceae*) نیز از دیگر گیاهان بومی ایران است. مهم‌ترین ترکیب شیمیایی فعال این گیاه ماده ای تحت عنوان پولگون می‌باشد که اثرات ضددردی و ضدالتهابی آن به خوبی مشخص شده است. اثرات ضدالتهابی این گیاه به واسطه مهار سمیت استیک اسید وپراکسیداسیون لیپیدی، شلات فلزات دخیل در اکسیداسیون و احیا، تضعیف فرآیندهای منتهی به تولید ترکیب های فعال اکسیژنه و در نتیجه کاهش استرس اکسیداتیو درون سلولی در رت‌هایی بود که در آنها التهاب القا شده بود(۱۲). اجزاء کاکوتی کوهی فعالیت آنتی توموری دارد و رشد نوعی از تومورهای بدخیم را تا ۳۲/۶ درصد و غدد سرطانی را تا ۴۷/۵ درصد کاهش می‌دهد(۱۳). گونه‌های کاکوتی می‌توانند منبع مهمی از فلاوونوییدها، مشتقات اسید کافئیک، اسیدهای چرب، تری‌ترپن و استرول باشند(۱۴). فلاونوئیدها می‌توانند از سد خونی ـ مغزی عبور کنند و به واسطه مکانیزم‌های مختلفی از جمله اثر بر گیرنده‌های $GABA_A$، اپیوئیدی، آلفا دو آدرنرژیک و مهارآنزیم‌های درگیر در التهاب مغز، درد را به صورت مرکزی کنترل کنند و منجر به بی دردی شوند(۱۵). اثر آنتی‌اکسیدانی گیاه کاکوتی ممکن است با سرکوب تشکیل ROS یا با مهار آنزیمی یا حفاظت از نقش آنتی‌اکسیدانی مرتبط باشد. فلاونوییدها به وسیله آنزیم‌های دخیل در تولید آنها مانند منواکسیژناز میکروزومی، گلوتاتتون s ترانسفراز، سوکسین اکسیداز میتوکندری، NADH[1] اکسیداز، تولید RAS را متوقف می‌کنند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه کاکوتی به وسیله چندین روش DPPH[2]، سوپراکسیداز، فعالیت رادیکال هیدروکسیل) مورد ارزیابی قرار گرفته است. با توجه به محتوای فلاونویید و پلی‌فنول بالا بیشترین فعالیت در عصاره الکلی این گیاه مشاهده شده است(۱۶). با توجه به این که بیماری آلزایمر یک بیماری نورودژنراتیو است و استرس اکسیداتیو نقش مهمی در ایجاد آن دارد و STZ[3] هم ماده‌ای است که از طریق ایجاد اختلالات متابولیکی و در نتیجه ایجاد استرس اکسیداتیو متعاقب آن باعث القای این بیماری می‌گردد، این مطالعه به منظور تعیین اثر عصاره کاکوتی بر بهبود اختلالات حافظه و یادگیری ناشی از تزریق درون بطنی در موش صحرایی نر انجام شد.

**روش بررسی**

این مطالعه تجربی(Experimental) در مرکز تحقیق‌های دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه به روش

1- Nicotinamide Adenine Dinucleotide Hydrogenase
2-1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl
3-Streptozotocin

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 3:20 +0430 on Sunday April 21st 2019

زیر انجام گردید. در این تحقیق ۴۲ سر رت نر از نـژاد ویستار با وزن تقریبـی ۲۰±۲۷۰ گـرم انتخـاب گردیـد. همـه حیوانـات در شـرایط اسـتاندارد ۲۴ــ۲۲ درجـه سـانتی‌گـراد گرمـا و سـیکل شـبانه روزی ۱۲ سـاعته نگهداری می‌شدند. به جز در هنگام آزمایش آب و غـذا به صورت آزاد در اختیار حیوان ها قرار داشـته و هـر چهار حیوان در یک قفس شیشه‌ای استاندارد نگهداری می‌شدند. در طـی همـه مراحـل آزمـایش طبـق اصـول نگهـداری و اسـتفاده از حیـوان‌هـای آزمایشـگاهی بـا حیوانات رفتار شد.

استرپتوزوتوسین از شرکت شیمیایی سیگما و کتامین(۱۰ درصـد) و زایلازیـن(۲ درصـد) از شـرکت آلفاسا هلند تهیه شد.

گیاه *Ziziphora* در بهار ۱۳۹۴ از ارتفاعات هزار مسـجد اسـتان خراسـان جمـع‌آوری شـد. جهـت عصاره‌گیری گیـاه کـاکوتی از بـرگ‌هـای آن اسـتفاده می‌شود. برای این منظور ابتدای برگ‌هـای گیـاه را در سایه با تهویه ی مناسب خشک کرده، سپس بـه کمـک آسیاب برقی به صورت پودر درآمد. سپس ۲۰ گرم از پـودر حاصـل را درون ارلـن درب دار ریختـه، ۲۰۰ میلی‌لیتر الکل اتیلیـک ۷۰ درجـه بـه آن اضـافه شـد و سـپس بـه مـدت ۴۸ سـاعت در انکوبـاتور ۳۷ درجـه (Memmert GmbH.Germany) نگهـداری شـد. هـر ۱۲ ساعت محتویات درون ارلن را به آرامی تکان داده شد و بعد از گذشت ۴۸ ساعت محتویات درون ظرف را به کمک کاغذ صافی وات من و قیف شیشه‌ای داخل بشـر صاف شد. سپس محلول صاف شده را در درون بالن ریخته و در دستگاه روتـاری(Microtome Rotary MR 2258) در دمای ۷۵ درجه با دور متوسط قرار داده شد، پـس از خروج حلال مایع غلیظ روی سـطح شیشـه‌ای پهـن گردید تا خشک شـود. پـودر حاصـله کـه حـدود۵۸/۶ درصد مایع عصاره را تشکیل می‌داد جمع‌آوری گردید و از پودر حاصله برای تهیه ی غلظت‌هـای۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم به کیلوگرمZTE[1] استفاده شد.

به منظور تزریق درون بطنی، ابتدا هر موش بر اساس وزن به وسیله تزریق داخل صفاقی مخلوطی از ترکیب کتامین هیدروکلراید (۱۰۰ میلی‌گرم بـر کیلـوگرم) وزایلازیـن(۱۰ میلـی‌گـرم بـر کیلـوگرم) بیهـوش شـد. حیوانات در دستگاه اسـتریوتکس(Stoelting ــ آمریکـا) قرار گرفتند. پس از تمیز کردن سطح جمجمـه و یـافتن نقطه برگما به عنوان مرجع، بـه روش استرئوتاکسـیک و با کمک اطلس پاکسینوس محـل تزریـق در دوطـرف سر نشانه گذاری شد، دو سوراخ کوچک به کمک متـه دنـدان پزشـکی ایجـاد شـد، سـپس بـه کمـک سـرنگ همیلتـون محلـول استرپتوزوتوسـین بـه صـورت دو طرفه به درون بطن‌های جانبی تزریق شد. جهت القـای آلزایمر، ۱۰ میکرولیتر از محلول استرپتوزوتوسین بـا غلظت ۳ میلی‌گرم بـر کیلـوگرم بـه درون هـر کـدام از بطـن هـای جـانبی بـا مختصـات بـر حسـب برگمـا: ۰/۸ــ = قـدامی‌خلفـی، ۳/۵ــ = پشـتی شـکمی و ۱/۵ـ = جانبی نسبت به خط وسط تزریق گردید. پس

1- *Ziziphora Tenuior* Extract

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 3:20 +0430 on Sunday April 21st 2019

از عمل، مراقبت‌های ویژه‌ای انجام می‌شد تا تغذیه حیوان به صورت خودبه خودی برقرار شود(۱۸و۱۷).

گروه‌های مورد مطالعه شامل؛ گروه کنترل: هیچ تیماری بر روی آنها صورت نگرفت، گروه شم، گروهی که تنها تحت جراحی قرار گرفته‌اند و گروه آلزایمری شده با استرپتوزوتوسین که خود به ۵ زیر گروه مشروح ذیل تقسیم شدند؛ ۱) گروه تحت تیمار با استرپتوزوتوسین(به دنبال جراحی، میزان ۳ میلی‌گرم استرپتوزوتوسین به صورت داخل بطنی به رت‌های این گروه تزریق گردید). ۲) گروه تحت تیمار با استرپتوزوتوسین به همراه سالین که به مدت ۲۱ روز، روزی یک مرتبه نرمال سالین (۰/۲ میلی‌لیتر) به صورت درون صفاقی دریافت می‌کردند. ۳) گروه‌های تحت تیمار با استرپتوزوتوسین به همراه کاکوتی که به مدت ۲۱ روز و روزی یک مرتبه کاکوتی(۱۰۰،۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم را به صورت درون صفاقی) مشابه گروه سالین دریافت می‌کردند.

جهت ارزیابی آلزایمر القا شده به وسیله استرپتوزتوسین و نیز اثرات حفاظتی عصاره آبی ـ الکلی کاکوتی بر حافظه و یادگیری فضایی، روش ماز آبی موریس استفاده شد. این دستگاه از یک حوضچه استوانه‌ای شکل سیاه رنگ تشکیل شده که تا ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر آن با آب ۱ ±۲۰ درجه سانتی‌گراد پر شد. یک سکوی کوچک از جنس فلز تیره رنگ با قطر۱۰ سانتی‌متر، و یک سانتی‌متر زیر سطح آب در مرکز ربع دایره جنوب غربی قرار دارد. موش به طور تصادفی از یکی از ربع های حوضچه آزاد شد و زمان پیدا کردن سکو به وسیله آزمایشگر ثبت شد.

هر موش به مدت ۵ روز و هر روز یک نوبت (هر نوبت شامل ٤ تجربه) از ٤ ربع حوضچه به طور تصادفی تحت آزمایش قرار گرفت. یک تجربه زمانی به اتمام می‌رسید که موش بر روی سکو رفته و یا ۹۰ ثانیه می‌گذشت. سپس ۳۰ ثانیه به حیوان فرصت داده می‌شد و پس از آن تجربه بعدی شروع می‌گردید. موش‌هایی که محل سکو را پیدا نمی‌کردند به وسیله آزمایشگر به روی سکو منتقل شده و اجازه می‌یافتند ۳۰ ثانیه در آن جا بمانند. پس از اتمام تجربه چهارم موش‌ها از حوضچه خارج می‌شدند(۱۹). در این مطالعه از ماز آبی موریس برای سنجش حافظه فضایی استفاده شد، زیرا انجام فعالیت‌های لازم در این سیستم (مدت زمان و مسافت طی شده در ربع محل قرارگیری سکو)، نیازمند عملکرد درست حافظه است(۲۰).

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون‌های آماری از آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی تجزیه و تحلیل شدند.

## یافته‌ها

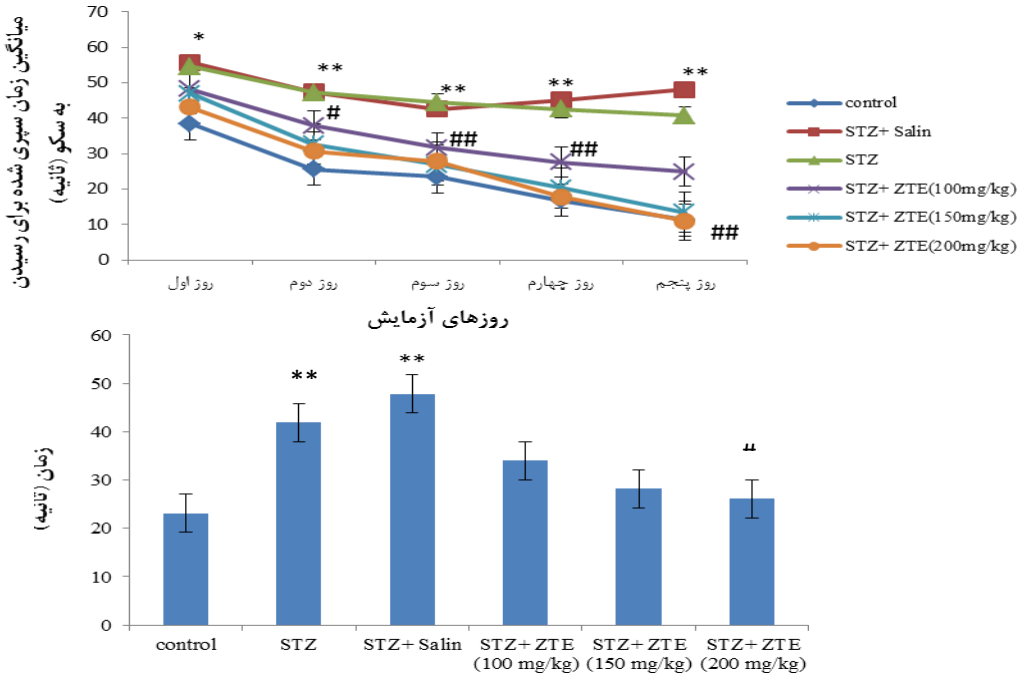
در این مطالعه تجربی اثر عصاره آبی ـ الکلی گیاه کاکوتی بر بهبود یادگیری فضایی رت‌های مبتلا به آلزایمر مورد بررسی قرار گرفت. در تمام روزهای

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 3:20 +0430 on Sunday April 21st 2019

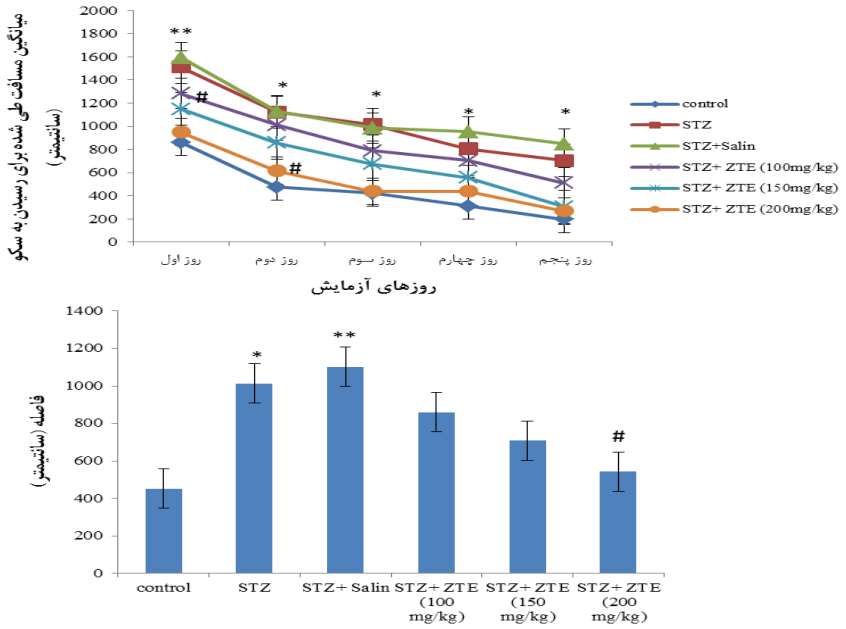
آموزش موش های گروه آلزایمری دیرتر و با طی مسافت بیشتری از موش‌های گروه کنترل و گروه آلزایمری تیمار شده با ZTE سکوی نجات را پیدا کردند. بین گروه کنترل و گروه شم در بررسی زمان لازم و مسافت طی شده جهت یافتن سکوی نجات تفاوت معنی داری دیده نشد(p<۰/۰۵)، به همین خاطر، در ادامه کار کل گروه‌ها با گروه کنترل مقایسه شدند. بین گروه استرپتوزوتوسین و گروه استرپتوزوتوسین همراه با سالین نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد(p<۰/۰۵) به عبارت دیگر، تزریق سالین تأثیری بر یادگیری حیوان های آلزایمری شده با استرپتوزوتوسین نداشت، ولی بین این دو گروه و گروه کنترل در تمام روزهای آزمایش تفاوت معنی دار بود(p<۰/۰۱). همچنین موش‌های گروه استرپتوزوتوسین به همراه سالین نیز دیرتر از موش‌های گروه کنترل و موش‌های گروه استرپتوزوتوسین تحت تیمار با کاکوتی سکوی نجات را پیدا کردند. در هیچ کدام از روزهای آزمایش، اختلاف گروه استرپتوزوتوسین تحت تیمار با کاکوتی (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با گروه استرپتوزوتوسین به همراه سالین معنی‌دار نبود. در گروه استرپتوزوتوسین تحت تیمار با کاکوتی(۲۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در روزهای دوم(p<۰/۰۵)، سوم، چهارم و پنجم(p<۰/۰۱) اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید(نمودار ۱).

در تمام روزهای آزمایش، موش‌های گروه استرپتوزوتوسین و گروه استرپتوزوتوسین همراه با سالین مسافت بیشتری برای رسیدن به سکوی نجات در مقایسه با موش‌های گروه کنترل و موش‌های گروه‌های استرپتوزوتوسین تحت تیمار با کاکوتی طی کردند. اختلاف بین گروه استرپتوزوتوسین و گروه استرپتوزوتوسین همراه با سالین در مقایسه با گروه کنترل در تمام روزهای آزمایش معنی‌دار بود(p<۰/۰۵). همچنین در مقایسه‌ای که بین گروه استرپتوزتوسین تحت تیمار با کاکوتی(۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) با گروه استرپتوزوتوسین و گروه استرپتوزوتوسین همراه با سالین انجام گردید، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در گروه استرپتوزوتوسین تحت تیمار با کاکوتی(۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) اختلاف معنی‌دار با گروه استرپتوزوتوسین همراه با سالین در روزهای اول تا سوم آزمایش مشاهده گردید(p<۰/۰۵)(نمودار ۲). در ارتباط با پارامتر سرعت حرکت رت‌ها جهت یافتن سکوی آزمایش، برعکس پارامترهای زمان و مسافت طی شده که به تدریج طی ۵ روز کاهش یافت، سرعت حرکت جهت رسیدن به سکو در تمم گروه‌ها افزایش یافت، ولی بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 3:20 +0430 on Sunday April 21st 2019




**نمودار ۱: منحنی یادگیری حیوانات در طی روزهای آموزش :A مقایسه ی مدت زمان پیدا کردن سکو در گروه های مورد مطالعه :B .** مقایسه میانگین کل مدت زمان پیدا کردن سکو بین گروه‌ها در ۵ روز آموزش. اختلاف معنی‌دار گروه آلزایمری در مقایسه با گروه کنترل (**P<0.01,*P<0.05). اختلاف معنی‌دار گروه استرپتوزوتوسین به همراه سالین در مقایسه با گروه استرپتوزوتوسین تحت تیمار با کاکوتی (##P<0.01, #P<0.05).




**نمودار ۲: منحنی یادگیری حیوانات در طی روزهای آموزش: A: مقایسه ی مسافت پیموده شده تا سکو بین گروه های مورد مطالعه.** B: مقایسه میانگین کل مسافت پیموده شده برای رسیدن به سکو بین گروه‌ها در ۵ روز آموزش. اختلاف معنی‌دار گروه آلزایمری در مقایسه با گروه کنترل(**P<0.01,*P<0.05). اختلاف معنی‌دار گروه استرپتوزوتوسین به همراه سالین در مقایسه با گروه استرپتوزوتوسین تحت تیمار با کاکوتی (##P<0.01, #P<0.05).

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 3:20 +0430 on Sunday April 21st 2019

**بحث**

در این مطالعه کاهش مسافت و زمان طی شده در گروه‌های تحت تیمار با عصاره آبی الکلی گیاه کاکوتی در مقایسه با گروه آلزایمری مشاده گردید. با توجه به کاهش معنی‌دار زمان لازم و مسافت طی شده جهت پیدا کردن سکو در حیوانات تیمار شده با کاکوتی (۱۰۰, ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به مدت ۲۱ روز در مقایسه با گروه آلزایمری می‌توان نتیجه گرفت که عصاره آبی الکی گیاه کاکوتی می‌تواند در تخفیف بیماری آلزایمر مؤثر باشد. هرچند مکانسیم‌های درگیر در کاهش حافظه و اعمال شناختی در بیماری آلزایمر مورد بحث است، با این وجود شاخص‌های نوروپاتولوژیک این بیماری شامل تجمع وسیع فیلامان‌های غیر طبیعی tau در کلافه‌های نوروفیبریلاری، تخریب وسیع نورون‌ها و نشست پلاک‌های بتاــ آمیلوئیدی(Aβ) می‌باشد(۲۲و۲۱). این بیماری با کاهش نورون‌ها در چندین منطقه مهم برای یادگیری و حافظه، به خصوص در هیپوکامپ همراه است(۲۳). با توجه به این که علت مرگ نورون‌ها در بیماری آلزایمر به طور دقیق مشخص نشده است، مطالعه ها نشان داده است که پپتید بتا آمیلوئید از طریق استرس اکسیداتیو می‌تواند آپوپتوز نورون‌ها را افزایش دهد. بنابراین چنین نتیجه‌گیری می‌شود که عوامل آنتی‌اکسیدانی می‌توانند در تخفیف بیماری آلزایمر مؤثر واقع شوند(۲۴). در رت‌ها مشاهده شده است که تزریق ماده ی دیابتوژنیک استرپتوزوتوسین، که جهت القای دیابت تیپ ۱ در حیوان‌های آزمایشگاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد(۲۵)، در اثر تزریق به داخل بطن‌های مغزی اثراتی مشابه با بیماری آلزایمر نوع تک‌گیر( Sporadic) بر روی حافظه و یادگیری و هم‌چنین فرآیندهای متابولیکی در مغز این حیوانات ایجاد می‌کند، بنابراین استرپتوزوتوسین داخل بطنی مدل مناسبی جهت مطالعه بیماری آلزایمر می‌باشد(۲۶). در خصوص استفاده از گیاهانی که حاوی مقادیر زیادی از پلی‌فنول‌ها هستند. پژوهش‌های زیادی صورت گرفته که اکثراً نشان دهنده اثر مثبت این مواد را در بهبود اختلالات شناختی در مدل‌های آزمایشگاهی می‌باشد(۲۹ـ۲۷) .

فربود و همکاران نشان دادند که عصاره دانه انگور به دلیل این که حاوی ترکیب‌های پلی فنول، پروآنتوسیانیدین و پروسیانیدین می‌باشد و هم‌چنین به علت دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی، این عصاره می‌تواند در پیشگیری و بهبود اختلال حافظه ناشی از تزریق درون بطنی استرپتوزوتوسین مؤثر واقع شود(۳۰). رژگانی و همکاران طی بررسی انجام شده بر روی عصاره کورکومین چنین بیان نمودند که تجویز درازمدت کورکومین در دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب تقویت توانایی نگهداری اطلاعات در انبار حافظه و به یادآوردن آنها در حیوانات دیابتی شده و بهبودی حافظه فضایی کوتاه مدت را به دنبال دارد و بخشی از این تأثیرات سودمند از طریق کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در بافت هیپوکامپ اعمال می‌شود(۳۱). زاکر و همکاران چنین بیان نمودند که مصرف مزمن عصاره آبی کندر در

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 3:20 +0430 on Sunday April 21st 2019

موش‌های صحرایی سالم می‌تواند موجب بهبود بازخوانی حافظه در روش یادگیری اجتنابی غیر فعال شده و هم‌چنین نقصان حافظه ناشی از تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین را کاهش دهد(۳۲).

مهدوی و همکاران نشان دادند که تیمار درون صفاقی عصاره کاکوتی کوهی به مدت ۴ هفته، به طور مؤثری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کبد و کلیه رت‌های دیابتی شده به وسیله استرپتوزوتوسین را افزایش می‌دهد. این عصاره، مالون دی هیدرات را که یک مارکر لیپید است، به میزان قابل توجهی در رت‌های دیابتی کاهش و نیز ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی را در طرح غیروابسته به غلظت، افزایش می‌دهد. بنابراین، عصاره کاکوتی دارای نقش محافظتی بر علیه آسیب اکسیداتیو در رت‌های دیابتی شده به وسیله استرپتوزوتوسین است (۳۳). کنیالیگلو و همکاران نشان دادند که تیمار با عصاره آبی کاکوتی کوهی به مدت ۲۱ روز، موجب اثر آنتی‌هیپرگلیسمیک وابسته به دوز در رت‌های دیابتی شده به وسیله استرپتوزوتوسین می‌گردد. یافته‌های آنها اثرات مثبت کاکوتی را بر رت‌هایی که به وسیله استرپتوزوتوسین دچار اختلالاتی در پروفیل لیپوپروتئین، وضعیت آنتی‌اکسیدان و تحمل گلوکز شده بودند، نشان داد. بنابراین، عصاره آبی کاکوتی کوهی، در کنترل دیابت، اختلال در پروفیل لیپید و استرس اکسیداتیو با فعال نمودن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان پانکراسی مفید است(۳۴). مطالعه حاضر برای اولین بار نشان داد که کاکوتی با توجه به نقشی که در درمان دیابت دارد می‌تواند به طور مؤثری موجب تخفیف بیماری آلزایمر گردد. از طرف دیگر پولگون به عنوان ترکیب شاخص اسانس گونه‌های کاکوتی یک مونوترپن اکسیژن دار حلقوی با چگالی ۰/۹۳ می‌باشد که دارای بوی مطبوعی بوده و در تعدادی از گیاهان این تیره، جزء اصلی تشکیل دهنده عصاره محسوب می‌شود. این ترکیب دارای خاصیت بارز ضدباکتری و ضد قارچ بوده و به ویژه بر روی سوش‌های مختلف سالمونلا مؤثر است. پولگون ماده‌ای ضد التهاب است که فعالیت آنتی‌هیستامینی آن بر روی خوکچه هندی بررسی شده و مشخص شده است که آنتاگونیست گیرنده‌های H1 بوده و دارای اثرات مشابه دکس کلرفنیر آمین است(۳۵) بالابودن اثرات آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی کاکوتی نشان می‌دهد که احتمالاً پلی‌فنل‌ها یا فلاون‌ها و فلاونوئیدها نقش مهمی در این فعالیت بازی می‌کند. هم‌چنین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره کاکوتی را می‌توان به وجود ترکیب‌هایی مثل؛ تیمول، ۱ و ۸ـ سینئول و بتا کاریوفیلن نسبت داد زیرا گزارش های متعددی در مورد اثرات آنتی‌اکسیدانی قابل توجه ترکیب‌های مذکور وجود دارد(۳۶). سرانجام تحقیق حاضر نشان داد که درمان با عصاره کاکوتی توانسته به طور معنی‌دار آسیب حافظه ایجاد شده ناشی از تزریق داخل بطن مغزی استرپتوزوتوسین را بهبود بخشد. امید است در آینده نزدیک با تحقیق بیشتر در این زمینه بتوان بیماران مبتلا به آلزایمر را با داروهای گیاهی مرتبط از جمله کاکوتی به راحتی درمان کرد.

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 3:20 +0430 on Sunday April 21st 2019

**نتیجه گیری**

با توجه به اهمیت گیاه کاکوتی از نظر دارویی و غذایی در ایران و به ویژه در مناطق غربی ایران، مطالعه ترکیب‌های مؤثره این گیاه، به ویژه عصاره آن که غنی از پولگون و تیمول است می‌توان حایز اهمیت باشد. طبق نتایج تحقیق حاضر، عصارهٔ هیدروالکلی کاکوتی به صورت مؤثری، گلوکز سرم را در موش‌های دیابتی کاهش می‌دهد و سازوکار اثر آن با افزایش آزادسازی انسولین از سلول‌های بتای پانکراسی است، لذا می‌توان عصاره این گیاه را به عنوان داروی ضددیابتی در نظر گرفت. با توجه به نقش مؤثر این گیاه به عنوان ماده آنتی‌اکسیدانی و کاهنده گلوکز چنین به نظر می‌رسد با توجه به تحقیق های انجام شده این ماده در بهبود و تخفیف بیماری الزایمر می‌تواند مفید واقع شود.

**تقدیر و تشکر**

نویسندگان این مقاله از مساعدت‌های بی دریغ مرکز علوم و تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه در راستای حمایت از این تحقیق تشکر و قدردانی نموده، هم‌چنین از دانشگاه شهید بهشتی جهت تهیه عصاره کاکوتی تشکر به عمل می‌آید.

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 3:20 +0430 on Sunday April 21st 2019

## REFERENCES

1.Wilson RS, Segawa E, Boyle PA, Anagnos SE, Hizel LP, Bennett DA. The natural history of cognitive decline in Alzheimer's disease. Psychol Aging 2012; 27(4): 1008–17.

2.Norfray JF, Provenzale JM. Alzheimer's disease: neuropathologic findings and recent advances in imaging. AJR Am J Roentgenol 2004; 182: 3-13.

3.Querfurth HW, LaFerla FM. Alzheimer's disease. N Engl J Med 2010; 362: 329-44.

4.Howlett DR, Simmons DL, Dingwall C, Christie G. In search of an enzyme: the β-secretase of Alzheimer's disease is an aspartic proteinase. Trends Neurosci 2000; 23(11): 565-70.

5.Jennifer M, Chris E. The role of oxidative stress in alzheimer's disease. Madeo and elsayad. J Alzheimers Dis Parkinsonism 2013; 3: 2.

6.Jomova K, Vondrakova D, Lawson M, Valko M. Metals, oxidative stress and neurodegenerative disorders. Mol Cell Biochem 2010; 345: 91-104.

7.Torres LL, Quaglio NB, de Souza GT, Garcia RT, Dati LM, et al. Peripheral oxidative stress biomarkers in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. J Alzheimers Dis 2011; 26: 59-68.

8,Fleming JL, Phiel CJ, Toland AE. The role for oxidative stress in aberrant DNA methylation in Alzheimer's disease. Curr Alzheimer Res 2012; 9: 1077-96.

9.Burman TK. Isolation and hypoglycemic activity of glycoprotein moran A from mulberry leaves. Planta Med 1985; 482-52.

10.Scartezzini P, Speroni E. Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. J Ethnopharmacol 2000; 71(1-2): 23-43.

11.Wyk BE, Wink M. Medicinal plants of the world: an illustrated scientific guide to important medicinal plants and their uses. Journal of Ethnobiology 2004; 24(2): 355-56.

12.Sezik E, Tumen G, Baser KH. Ziziphoratenuior L. A new source of polygon. Flavour and Fragrance Journal 1991; 6(1): 101-4.

13.Franks S. Polycystic ovary syndrome. N Engl J Med 1995; 333(13): 853-61.

14.Razmjoue D, Zarei Z. Study on the ecological specifications effects (climate and height) on chemical compounds of Ziziphora medicinal plant essential oil (Ziziphora clinopodioides Lam) in Fars province, Iran. J Chem Biol Phys Sci 2015; 5: 3049-66.

15.Golabi S, hassanpour-ezati M, Rohampour K. Effect of aqueous extracts of sun-dew (Drosera spatulata) on the firing rate of PGi nucleus neurons after formalin-induced pain in rats. Journal of Physiology and Pharmacology 2011; 14(3): 282-7.

16.Tian S, Shi Y, Zhou X, Ge L, Upur, H. Total polyphenolic (flavonoids) content and antioxidant capacity of different Ziziphora clinopodioides Lam. Extracts Pharmacog Mag 2011; 7; 65–8.

17.Sharma B, Singh N, Singh M. Modulation of celecoxib- and streptozotocin-induced experimental dementia of Alzheimer's disease by pitavastatin and donepezil. J Psychopharmacol 2008; 22(2): 162-71.

18.Grünblatt E, Koutsilieri E, Hoyer S, Riederer P. Gene expression alterations in brain areas of intracerebroventricular streptozotocin treated rat. J Alzheimers Dis 2006; 9(3): 261-71.

19.Giralt A, Saavedra A, Carretón O, Xifró X, Alberch J, Pérez-Navarro E. Increased PKA signaling disrupts recognition memory and spatial memory: role in Huntington's disease. Hum Mol Genet 2011; 20(21): 4232-47.

20.McNamara R, Skelton RW. The neuropharmacological and nerochemical basis of place learning in the Morris water Maze. Brain Res Brain Res Rev 1993; 18(1): 33-49.

21.Bothwell M, Giniger E. Alzheimer's disease: neurodevelopment converges with neurodegeneration. Cell 2000; 102(3): 271-3.

22.Grace EA, Rabiner CA, Busciglio J. Characterization of neuronal dystrophy induced by fibrillar amyloid beta: implications for Alzheimer's disease. Neuroscience 2002; 114(1): 265-73.

23.Herring A, Ambree O, Tomm M, Habermann H, Sachser N, Paulus W, et al. Environmental enrichment enhances cellular plasticity in transgenic mice with Alzheimer-like pathology. Exp Neurol 2009; 216(1): 184-92.

24.Barkats M, Millecamps S, Abrioux P, Geoffroy MC, Mallet J. Overexpression of glutathione peroxidase increases the resistance of neuronal cells to Abeta-mediated neurotoxicity. J Neurochem 2000; 75(4): 1438-46.

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 3:20 +0430 on Sunday April 21st 2019

25.Reisi P, Babri S, Alaei H, Sharifi MR, Mohaddes G, Lashgari R. Effects of treadmill running on short-term pre-synaptic plasticity at dentate gyrus of streptozotocin-induced diabetic rats. Brain Res 2008; 1211: 30-6.
26.Ishrat T, Khan MB, Hoda MN, Yousuf S, Ahmad M, Ansari MA, et al. Coenzyme Q10 modulates cognitive impairment against intracerebroventricular injection of streptozotocin in rats. Behav Brain Res 2006; 171(1): 9-16.
27.Letenneur L, Proust-Lima C, Le Gouge A, Dartigues JF, Barberger-Gateau P. Flavonoid intake and cognitive decline over a 10-year period. Am J Epidemiol 2007; 165(12): 1364-71.
28.Spencer JP. Beyond antioxidants: the cellular and molecular interactions of flavonoids and how these underpin their actions on the brain. Proc Nutr Soc 2010; 69(2): 244-60.
29.Spencer JP. Flavonoids: modulators of brain function?. Br JNutr 2008; 99(1): S60-77.
30.Farbood Y, Sarkaki AR, Shahrani Korrani M, Saadatfard M. Effect of grape seed extract on improving memory and learning impairment induced by streptozotocin in male ra. Journal of Gorgan University of Medical Sciences 2016; 18(2): 27-34.
31.Roghani M, Baluchnejadmojarad T. The effect of curcumin on short-term spatial memory and passive avoidance learning and memory in diabetic rats and evaluation of the role of lipid peroxidation. Daneshva R(medicine) Shahed University 2012; 97: 1-11.
32.Zaker SR, Beheshti S, Aghaie R, Noorbakhshnia M. Effect of olibanum on a rat model of Alzheimer's disease induced by intracerebroventricular injection of streptozotocin. Physiology and Pharmacology 2015; 18(4): 477-89.
33.Mahdavi M. Antimicrobial effects of Ziziphora clinopodioidesextracts on Salmonella typhi Vi+ in vitro, in vivo and amp; amp; cell culture. Clinical Biochemistry. 2011; 44(13): S326.
34.Konyalıoglu S, Bintug O, And Gözde EM. Comparison of chemical compositions and antioxidant activities of the essential oils of two ziziphora. taxa from anatolia. Pharmaceutical biology 2006; 121-126.
35.Sajadi SE, Ghasemi dehkordi N, Balochi M. Chemical composition of the essential oil of aerial parts of Ziziphora clinopodioides Lam. Pajouhesh Va Sazandegi J 2003; 16(1): 97-100.
36.Sokmen A, Gulluce M, Akpulat HA, Daferera D, Tepe B, Polissiou M, et al. The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic Thymus spathulifolius. Food Control 2004; 15(8): 627-34.

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 3:20 +0430 on Sunday April 21st 2019

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

# The effect of *Ziziphora Tenuior* L. Hydro-Alcoholic Extract on Learing and Spatial Memory in Rat Model of Alzheimer's Disease by Intraventricular Injection of Streptozotocin

**Mohammadi SH*, Mohammadi Mehdiabadi Hassani MH**
Department of Animal Biology, Kharazmi University, Tehran, Iran

Received: 10 Oct 2016 Accepted: 18 Oct 2017

**Abstract:**

**Background and aim:** Alzheimer's disease (AD) is one of the most common neurodegenerative diseases and is closely associated with impaired insulin signaling and glucose metabolism in the brain. *Ziziphora tenuior* exhibits antidiabetic effects and antioxidant and memory augmenting properties. For this reason, the aim of this study was to investigate the effect of hydro-alcoholic extract of *Ziziphora* medicinal plant on the progress of Alzheimer's disease.

**Methods:** In this experimental study, 42 male wistar rats (270 ± 20 gr) were divided in five groups (n = 6): control, sham, Alzheimer, Alzheimer + saline and Alzheimer + *Ziziphora (3 groups)*. For Alzheimer induction, streptozotocin was injected intracerebroventricular (ICV) and after that, rats received Ziziphora daily (100, 150, 200 mg/kgBW) for 21 days. The Morris Water maze was used for studying the spatial learning memory. Data were analyzed by SPSS software and ANOVA and Tukey's post-test.

**Results:** Intraventricular injection of streptozotocin damaged the spatial memory. Pretreatment of *Ziziphora* (100, 150, 200 mg/kg; 21 days) significantly ($p<0.05$) improved the reduced spatial memory in Alzheimer's rats. **In the learning phase of the** Morris water maze test, the rats receiving the extract of *Ziziphora* in comparison with control group were found the hidden escaped platform in the shorter time and distance. In addition, 5 days after learning, in the recall phase, these rats spent more time in a quarter that placed previously escaped platform.

**Conclusion:** Based on the results, treatment of rats with hydro-alcoholic extract of *Ziziphora* can help prevent spatial memory loss during Alzheimer's disease. The extract of this plant can be improved cognitive processes through positive effects on neurological function and probably had been a significant role in the prevention and treatment of neurological disorders.

**Key words**: Alzheimer, Ziziphora tenuior, Streptozotocin, Learning, Memory

***Corresponding author: Mohammadi SH,** Department of Animal Biology, Kharazmi University, Tehran, Iran
**Email:** shimamoamadi1365@gmail.com

**Please cite this article as follows:**
Mohammadi SH, Mohammadi Mehdiabadi Hassani MH. The effect of Ziziphora Tenuior L. Hydro-Alcoholic Extract on Learing and Spatial Memory in Rat Model of Alzheimer's Disease by Intraventricular Injection of Streptozotocin. Armaghane-danesh 2017; 22 (5): 557-569.