

## 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 غیر فعال 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 وزنی ۱/۱۵ به مدت یک الی دو ماه در موشهای گروههای کنترل و دیابتی تغییر معنی دار در میزان گلوکز سرم ایجاد نمود. 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 ( $p < 0.05$ ). 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 ( $p < 0.01$ ) و دوم ( $p < 0.05$ ) در مقایسه با گروه کنترل می گردد. همچنین، کاهش تأخیر در حین عبور در موشهای دیابتی ( $p < 0.05$ ) و افزایش آن ( $p < 0.05$ ) 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 نر مال و دیابتی شده می گردد.

**کلید واژه ها:** آزمون اجتنابی غیر فعال / استرپتوزوتوسین / بوزیدان / حافظه / دیابت شیرین / موش / یادگیری

### مقدمه:

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

بیماری دیابت قندی یکی از شایعترین بیماریهای سیستم غدد درون ریز بدن محسوب می شود که بر اساس

\* 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

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 هتروژنیتته این بیماری، نیاز برای یافتن ترکیبات مؤثر با عوارض جانبی کمتر در جلوگیری از یا درمان دیابت یا مشکلات ناشی از آن شدیداً احساس می گردد. 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 در دنیا 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 سکتة مغزی مورد تأیید 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 هیپوکلوسترولمیک تجویز خوراکی ریشه گیاه بوزیدان در افراد مبتلا به دیابت قندی نوع ۲ مورد تأیید قرار گرفته است و از نظر بالینی عارضه جانبی خاص بر اثر مصرف آن مشاهده نشده است (۱۵) و

عوارض متابولیکی حاد نظیر کتواسیدوز و اغمای هیپراسمولار و با یک اختلال متابولیک مزمن و عوارض نامطلوب در درازمدت نظیر انواع مختلف نوروپاتی (شامل منوروپاتی، پلی نوروپاتی، و نوروپاتی اوتونومیک)، رتینوپاتی، گرفتاری عروق کلیوی، ضایعات پوستی، و اختلالات در سیستم قلب و گردش خون همراه می باشد (۲). نوروپاتی یکی از مهمترین مشکلات بالینی و یکی از علل مرگ و میر در بیماران مبتلا 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 رزتراسیون 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 فیما بین 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 میکروواسکولار 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 دنداندار (*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

در طی هفته های چهارم و هشتم پس از بررسی به انجام رسید. روش کار به این صورت بود که پس از تهیه محلول 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 جذب نوری با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (اسپکترونیک ۲۰، آمریکا) در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد و غلظت گلوکز با توجه به میزان جذب نور در مورد نمونه استاندارد (غلظت گلوکز برابر با ۱۰۰ میلی گرم بر دسی لیتر) تعیین گردید.

آزمون رفتار اجتنابی (احترازی) غیرفعال (Passive avoidance test) برای بررسی رفتار احترازی غیر فعال از یک دستگاه به ابعاد ۲۰×۸۰×۲۰ سانتی متر (شاتل باکس) دارای یک محفظه روشن (Safe side) و یک محفظه تاریک (Unsafe side) استفاده شد. میله های فلزی موجود در کف محفظه تاریک برای شوک دادن به پای حیوان استفاده شد. برای اعمال تحریک به محفظه تاریک از دستگاه استیمولاتور خاص (بهبودپرداز، تهران) استفاده گردید. بدین منظور، تک تحریکی به شدت یک میلی آمپر و به مدت دو ثانیه اعمال گردید.

روش بررسی رفتار احترازی غیر فعال: در این مطالعه روش بررسی رفتار احترازی غیر فعال در هفته های چهارم و هشتم پس از بررسی به شرح زیر بود (۸):

الف - مرحله سازش (Adaptation): در این مرحله هر حیوان برای دو روز متوالی قبل از شروع آزمایش حداقل به مدت ۵ دقیقه در داخل دستگاه قرار داده شد. ب - مرحله اکتساب (Acquisition): در این مرحله (روز سوم) برای شروع آزمایش حیوان را در محفظه Safe یا روشن قرار داده و به مدت دو دقیقه این محفظه تاریک نگه داشته می شد. در این مدت در گیلوتینی ارتباط دهنده محفظه روشن و تاریک کاملاً بسته بود. در انتهای دوره، لامپ محفظه Safe را روشن کرده و در گیلوتینی باز می گردید. به محض باز کردن در، کرنومتر را بکار انداخته و مدت زمانی که طول می کشید تا حیوان از محفظه روشن به محفظه تاریک برود یادداشت می گردید که این مدت زمان تحت عنوان تاخیر اولیه یا II اطلاق گردید (ملاک برای ورود حیوان به محفظه تاریک عبور اندامهای حرکتی پشتی حیوان از در ارتباط دهنده دو محفظه بود). سپس در را پائین آورده و یک تک شوک به حیوان وارد می آمد.

همالاتا و همکاران اثر هیپوگلیسمیک میوه برخی گیاهان خانواده سولاناسه (Solanaceae) که بوزیدان نیز در این گروه قرار می گیرد را در مدل تجربی دیابت قندی نوع ۱ القا شده توسط استرپتوزوتوسین در موش صحرایی نشان داده اند (۱۶)، این مطالعه با هدف تعیین اثر تجویز خوراکی و درازمدت ریشه بوزیدان بر یادگیری و حافظه در موشهای صحرایی دیابتی با استفاده از آزمون اجتنابی غیرفعال (Passive avoidance test) انجام گردید.

:

در این مطالعه تجربی از ۴۸ سر موش صحرایی نر سفید نژاد ویستار (انسستیتو پاستور، تهران) در محدوده وزنی  $30 \pm 30.5$  گرم در شروع بررسی استفاده شد. تمام حیوان ها در دمای  $2 \pm 21$  درجه سانتیگراد در گروههای ۳ تا ۴ تایی در هر قفس قرار داده شدند. حیوان ها آزادانه به آب لوله کشی و غذای مخصوص موش (شرکت خوراک دام پارس، کرج) و یا غذای مخلوط شده با پودر ریشه بوزیدان به نسبت مورد نظر (۱/۱۵) به مدت یک الی دو ماه دسترسی داشتند. به منظور حصول حالت سازش با محیط، تمامی آزمایش ها پس از گذشت حداقل دو هفته استقرار حیوانات در آزمایشگاه حیوانات دانشکده پزشکی به انجام رسید.

پس از خریداری و تأیید علمی، پودر بدست آمده از آسیاب نمودن ریشه بوزیدان با یک نسبت وزنی ۱/۱۵ با غذای پودر شده و استاندارد موش مخلوط و مجدداً غذای پلاته (Pelleted) تولید گردید (۱۷). در این بررسی از آن دسته موش های صحرایی نر استفاده شد که در شرایط طبیعی بدون برقراری حالت روزه داری میزان گلوکز سرم آنها کمتر از ۲۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر بود. موش ها به طور تصادفی به چهار گروه کنترل (۱۴)، کنترل تحت تیمار با بوزیدان (۸)، دیابتی (۱۴)، و دیابتی تحت تیمار با بوزیدان (۱۲) تقسیم شدند. تیمار با بوزیدان به مدت ۸ هفته ادامه یافت. برای دیابتی نمودن موش ها از داروی استرپتوزوتوسین (STZ) به صورت تک دوز و داخل صفاقی به میزان ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم حل شده در محلول سالین فیزیولوژیک سرد استفاده شد. حجم محلول تزریقی به هر حیوان ۰/۵ میلی لیتر بود. خونگیری از شبکه رترواوربیتال در تحت شرایط بیهوشی نسبی در حضور اثر به انجام رسید. اندازه گیری میزان گلوکز سرم توسط روش آنزیمی گلوکز اکسیداز (زیست شیمی) قبل از انجام کار و

در حالیکه 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 ( $p < 0/001$  و  $p < 0/05$ ) به ترتیب در حد  $25/7\%$  و  $13/7\%$  در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند و در هفته هشتم پس از بررسی نیز این کاهش در حد  $35/5\%$  و  $22/7\%$  ( $p < 0/001$ ) 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 در مقایسه 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 ( $p < 0/001$ ) بیشتر از گروه کنترل بود، در حالیکه گروه کنترل تحت تیمار 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 نیورد (جدول ۱).

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 می شد با این تفاوت که زمانیکه حیوان به محفظه تاریک وارد می شد هیچ گونه شوکی را دریافت نمی کرد. در این مرحله، تاخیر در حین عبور یا STL اندازه گیری گردید. منظور از STL مدت زمانی است که حیوان در محفظه روشن باقی می ماند قبل از آنکه وارد محفظه تاریک شود.

آنالیز آماری: تمام نتایج به صورت میانگین  $\pm$  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،  $p < 0/05$  به عنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شد.

### نتایج:

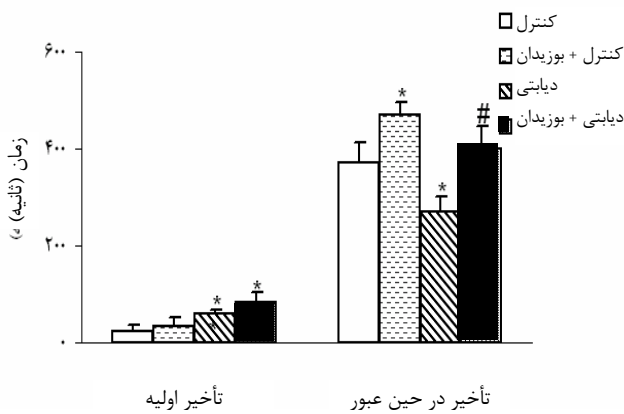
وزن حیوانات در هفته قبل بررسی و هفته های چهارم و هشتم پس از بررسی در تمام گروهها اندازه گیری شد. نتایج بدست آمده نشان داد که میزان وزن در هفته قبل بررسی تفاوت معنی دار بین گروهها نشان نمی دهد،

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

	میزان گلوکز سرم (mg/dl)			وزن بدن (gr)			
	هفته ۸	هفته ۴	قبل بررسی	هفته ۸	هفته ۴	قبل بررسی	
	$123/4 \pm 9/7$	$148/5 \pm 10/6$	$139/3 \pm 9/2$	$321/6 \pm 9/1$	$309/8 \pm 8/3$	$299/2 \pm 9/6$	کنترل
	$127/6 \pm 9/2$	$142/6 \pm 8/9$	$145/2 \pm 10/1$	$322/5 \pm 11/4$	$318/3 \pm 10/5$	$312/6 \pm 9/1$	کنترل + بوزیدان
	$411/3 \pm 13/9^{**}$	$423/3 \pm 18/4^{**}$	$138/4 \pm 11/3$	$207/4 \pm 10/7^{**}$	$230/1 \pm 12/6^{**}$	$291/6 \pm 10/3$	دیابتی
	$365/5 \pm 16/6^{**}$	$378/4 \pm 15/1^{**}$	$129/9 \pm 8/3$	$238/3 \pm 15/4^{**}$	$267/1 \pm 10/8^*$	$315/7 \pm 11/4$	دیابتی + بوزیدان

\*  $P < 0/05$

\*\*  $P < 0/001$  (در مقایسه با گروه کنترل)



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.

\*  $P < 0.05$  (در مقایسه با گروه کنترل)

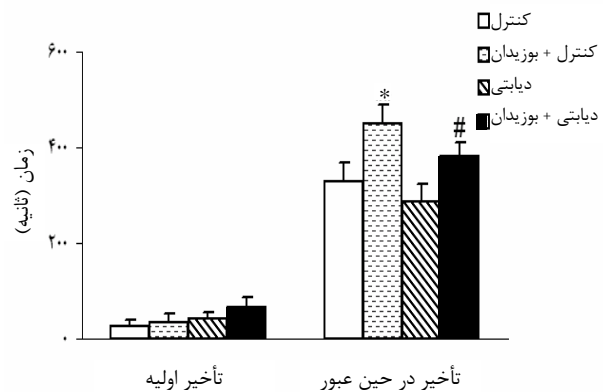
#  $P < 0.05$  (در مقایسه با گروه دیابتی)

### بحث:

نتایج این بررسی نشان داد که تجویز خوراکی و درازمدت ریشه بوزیدان با یک نسبت وزنی ۱/۱۵ به مدت یک الی دو ماه در موشهای گروههای کنترل و دیابتی تغییر معنی دار در میزان گلوکز سرم ایجاد نمی نماید. هر چند همالاتا و همکاران اثر هیپوگلیسمیک میوه برخی گیاهان خانواده Solanaceae که بوزیدان نیز در این گروه قرار می گیرد را در مدل تجربی دیابت قندی نوع ۱ القا شده توسط استرپتوزوتوسین در موش صحرایی نشان داده اند (۱۶) ولی در مطالعه حاضر تجویز خوراکی ریشه بوزیدان به مدت ۱ الی ۲ ماه فاقد هر گونه اثر هیپوگلیسمیک بارز و معنی دار در موشهای دیابتی بود که علت آن تا حدودی به تفاوت در مواد مؤثره اجزاء مختلف گیاه مربوط می باشد.

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 و 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، در خصوص حفظ و به یاد آوری اطلاعات (که با اندازه گیری تأخیر در حین عبور مشخص شد) تیمار موشهای گروه کنترل با ریشه بوزیدان موجب افزایش معنی دار تأخیر در

از نظر تأخیر اولیه در پایان ماه اول، دو گروه دیابتی و دیابتی تحت تیمار با بوزیدان یک یک افزایش غیر معنی دار در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند. همین افزایش غیر معنی دار به میزان کمتر در گروه کنترل تحت تیمار نیز مشاهده گردید. از نظر تأخیر در حین عبور در پایان همین ماه مشخص شد که این پارامتر در گروه کنترل تحت تیمار با بوزیدان بطور معنی دار ( $p < 0.01$ ) بیشتر از گروه کنترل می باشد. ضمناً گروه دیابتی یک کاهش غیر معنی دار در مقایسه با گروه کنترل نشان داد. در مقایسه دو گروه دیابتی و دیابتی تحت تیمار با بوزیدان نیز معلوم گردید که یک تفاوت معنی دار ( $p < 0.05$ ) بین این 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.

\*  $P < 0.01$  (در مقایسه با گروه کنترل)،

#  $P < 0.05$  (در مقایسه با گروه دیابتی)

در پایان ماه دوم نیز فقط دو گروه دیابتی و دیابتی تحت تیمار یک افزایش معنی دار ( $p < 0.05$ ) در تأخیر اولیه در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند. بعلاوه، میزان تأخیر در حین عبور در گروه کنترل تحت تیمار بطور معنی دار ( $p < 0.05$ ) بیشتر از گروه کنترل و مقدار آن در گروه دیابتی درمان نشده بطور بارز و معنی دار کمتر بود ( $p < 0.05$ ) که این خود مؤید نیاز به حداقل بیش از یک ماه برای بروز برخی تغییرات رفتاری شامل بروز نقائص در حافظه و یادگیری در موشهای صحرایی دیابتی می باشد. از طرف دیگر، این پارامتر در گروه دیابتی تحت تیمار با بوزیدان بطور بارز و معنی دار بیشتر از گروه دیابتی بود (شکل ۲).

دو ماه مورد تأیید 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 نکرور 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 گلوکوتایون 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 می دارند.

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. (۲۰-۲۴). 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 تواناییها 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 (۲۵-۲۶). 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

## منابع:

- American Diabetes Association. Clinical practice recommendation, screening for diabetes. *Diabetes Care* 1997;20:22-24.
- Gleckman R, Morr J. Diabetes-related foot infection. *Contemp Intern Med* 1994;6:57-64.
- Galer BS, Gianas A, Jensen MP: Painful diabetic polyneuropathy: epidemiology, pain description, and quality of life. *Diabetes Res Clin Pract* 2000; 47:123-128.
- 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
- 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 Neurosci* 2001; 182: 99-106
- 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.
- 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.
- 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.
- Scartezzini P, Speroni E. Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. *J Ethnopharmacol* 2000; 71:23-43 .
- 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.
- Withania Somnifera* – Monograph. *Altern Med Rev* 2004; 9:211-214.
- 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.
- 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 modifications. *Drug Metabol Drug Interact* 2003; 19:211-222.
- Dhuley JN. Effect of ashwagandha on lipid peroxidation in stress-induced animals. *J Ethnopharmacol* 1998; 60: 173-178.
- Andallu B, Radhika B. Hypoglycemic, diuretic and hypocholesterolemic effect of winter cherry (*Withania somnifera*, Dunal) root. *Indian J Exp Biol* 2000; 38:607-609.
- 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.
- 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.
- 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 normal adult rats. *J Neurosci Res* 2003; 74:512-523.
- Biessels GJ, ter Laak MP, Kamal A, Gispen WH. Effects of the Ca<sup>2+</sup> antagonist nimodipine on functional deficits in the peripheral and central nervous system of streptozotocin-diabetic rats. *Brain Res* 2005; 1035:86-93.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Reagan LP, McEwen BS. Diabetes, but not stress, reduces neuronal nitric oxide synthase expression in rat hippocampus: implications for hippocampal synaptic plas-

- 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.