

اثر شنبیله بر حافظه و یاد گیری و ظرفیت آنتی اکسیدان در هیپوکامپ رت های دیابتی

تیپ II

مرجان معین^۱، سید مهرداد کسائی^{}

(اکروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد همدان، همدان، ایران)

تاریخ پذیرش: ۹۵/۲/۱

تاریخ دریافت: ۹۴/۸/۱۷

چکیده

مقدمه: بر اساس شواهد مبنی بر اثرات درمانی شنبیله در دیابت و نقش آن در تقویت حافظه و سلامت روان، در این مطالعه اثر تجویزی عصاره شنبیله بر حافظه و یاد گیری و هم چنین میزان آنتی اکسیدان در هیپوکامپ 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 شنبیله به ازای هر کیلو گرم غذا، گروه ۴: رت دیابتی + ۲ گرم عصاره آبی شنبیله 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 آلدید در هیپوکامپ 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 می کشد تا حیوان سکوی مخفی را پیدا کند (escape latency) و مسافتی که برای پیدا کردن سکوی مخفی طی می کند (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 شنبیله می تواند زمان ماندن در اثاقک تاریک را کاهش و زمان تاخیر در حین عبور را در موس های تیمار شده نسبت به گروه دیابتی افزایش دهد ($p < 0.05$).

بحث و نتیجه گیری: تجویز عصاره شنبیله بر توانایی نگه داری اطلاعات در انبار 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 هیپوکامپ به خاطر ظرفیت آنتی اکسیدان این گیاه باشد.

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

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

Email: kassae2001@yahoo.com

Copyright © 2017 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

یادگیری و ظرفیت آنتی اکسیدان در هیپوکمپ رت
های دیابتی تیپ II بود.

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 می دهد. 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 توسمین(STZ)، اختلالات یادگیری و حافظه دیده می شود (۲). مطالعات مختلف نشان داده اند که دیابت به طور عمده با اختلالات دئنراتیو 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 می شود، استرس اکسیداتیو است. گونه های اکسیژن فعال (ROS) که از رادیکال های 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 می شود که تاثیر مستقیمی بر روی حافظه و یادگیری افراد دیابتی دارد (۴). با توجه به عوارض متعدد داروهای شیمیایی، امروزه تمایل زیادی برای استفاده از گیاهان داروبی جهت درمان اختلالات شناختی و یادگیری وجود دارد. شنبیله با نام علمی *Trigonella foenum-graceum L* یک گیاه علفی یک ساله از تیره Leguminosae است که بومی شرق مدیترانه است. این گیاه در طب سنتی مصارف زیادی دارد. ترکیبات موجود در این گیاه فلاونوپییدهایی مانند Orientin و Quercetin و آلکالوپیدها مانند Vitexin و 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 شنبیله بر حافظه و

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 (۱۲ ساعت/ ۱۲ ساعت) و تهیویه مناسب نگه داری شدند. سپس رتها 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 شنبیله به ازای هر کیلو گرم غذا (۳) گروه دیابتی + ۲ گرم عصاره آبی شنبیله به ازای هر کیلو گرم غذا (۴) گروه دیابتی.

تهییه عصاره ها: گیاه شنبیله از بازار تهییه و به صورت پودر درآورده شد. سپس ۵۰ گرم از پودر در یک اrlen ریخته و به آن ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطور 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. عصاره های به دست آمده از کاغذ صافی، عبور داده شد. محلول حاصل در انکوباتور ۴۰ درجه تحت شرایط ستون خشک گردید (۶).

دیابتی کردن رتها: جهت القاء دیابت به رتها، استرپتوزو توسمین (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 ناشتا مساوی یا بیش تراز ۲۵۰mg/dl به عنوان مدل دیابتی در نظر گرفته شد (۷).

آزمون رفتار یادگیری احترازی غیر فعال: بعد از یک ماه درمان، رتها 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

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 ۶۷/۰ 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 سانتیفیوز شد. محلول رویی جدا سازی و جذب نوری آن توسط دستگاه اسپکترو فوتومتر 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 فوتومتر در طول موج ۵۹۳ نانو متر اندازه گیری می شود^(۱۰).

واکنش گر FRAP با مخلوط کردن ۲۵ میلی لیتر استات بافر ۳۰۰ 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 های میانگین ها با استفاده از نرم افزار SPSS 18 در سطح معنی داری ($p < 0.05$) و با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه های ANOVA و تست Tukey انجام شد.

یادگیری احترازی غیر فعال (shuttle box) شامل دو بخش روشن و تاریک است که توسط یک درب گیوتینی از هم جدا می شدند. جهت انجام این تست حیوان را در وضعیتی که پشتیش 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 ۸-۱۲ صبح انجام گردید. طولانی تر شدن تأخیر زمانی برای اولین ورود به اتاق تاریک نشانه یادگیری و حافظه بهتر بود^(۸).

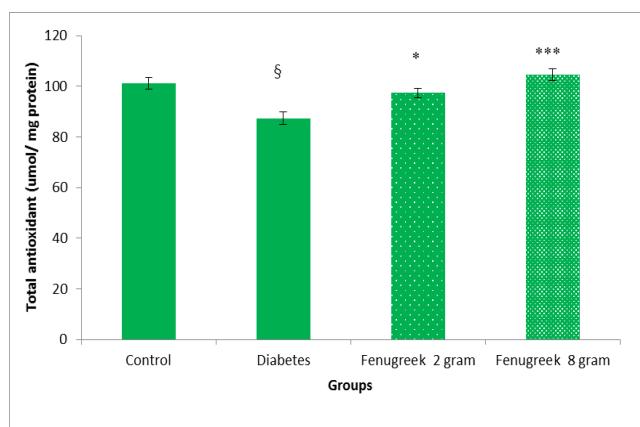
بررسی حافظه فضایی با دستگاه ماز آبی: برای بررسی حافظه فضایی از دستگاه ماز آبی استفاده شد. این دستگاه برای بررسی یادگیری و حافظه فضایی طراحی شده و شامل حوضچه استوانه ای سیاه رنگ با قطر ۱۸۰ سانتی متر و ارتفاع ۶۰ سانتی متر است که با آب ۱۹ درجه سانتی گراد تا ارتفاع ۲۵ سانتی متری پر می شود، این حوضچه به صورت فرضی به ۴ ربع دایره تقسیم شده و سکوی کوچکی از جنس پلکسی گلاس با قطر ۱۰ سانتی متر زیر سطح آب در مرکز 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 می کشد تا سکو مخفی را پیدا کند (escape latency)، (۲) مسافتی که رت برای پیدا کردن سکوی مخفی طی می کند (travel distance) (۳) مدت زمان باقی (time in target quadrant) ماندن در ربع هدف (target quadrant).

اندازه گیری مالون دی آلدھید: مالون دی آلدھید 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

۸ گرم به ازای هر کیلو گرم غذا سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی(مالون دی آلدھید) 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 ($p<0.01$) در مقایسه با رت های نرمال کاهش یافت ($p<0.01$) و تیمار رت ها با عصاره شنبیله 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).

یافته های پژوهش:

تأثیر شنبیله بر وزن بدن و شاخص های 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 شنبیله 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 رت های نرمال افزایش یافت ($p<0.01$) و تیمار رت ها با عصاره شنبیله با دوز ۲ و ۸ گرم به ازای هر کیلو گرم غذا سبب کاهش وزن رت های دیابتی شد ($p<0.01$).



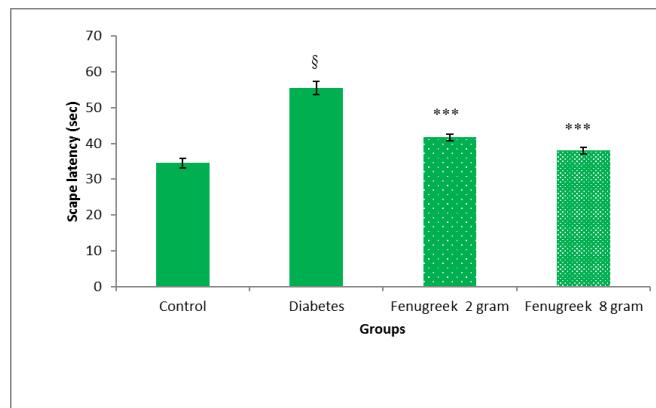
نمودار ۱ : تأثیر مصرف شنبیله (Fenugreek) با دوزهای ۲ و ۸ گرم، بر روی میزان سطح آنتی اکسیدانی تام (TAC) در هیبو کامپ گروه های مورد مطالعه . داده ها به صورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ نشان داده شده اند. تفاوت گروه مصرف کننده عصاره شنبیله در مقایسه با گروه دیابتی معنی دار است. معنی داری به صورت $*P<0.05$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

مدت زمانی که طول می کشد تا سکوی مخفی را پیدا کند

در گروه تیمار شده با شنبیله مدت زمانی که طول می کشد تا رت ها سکوی مخفی را پیدا کنند به طور معنی داری کم تر از گروه دیابتی بود (نمودار ۲).

نتایج مربوط به بررسی حافظه فضایی با دستگاه ماز آبی

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

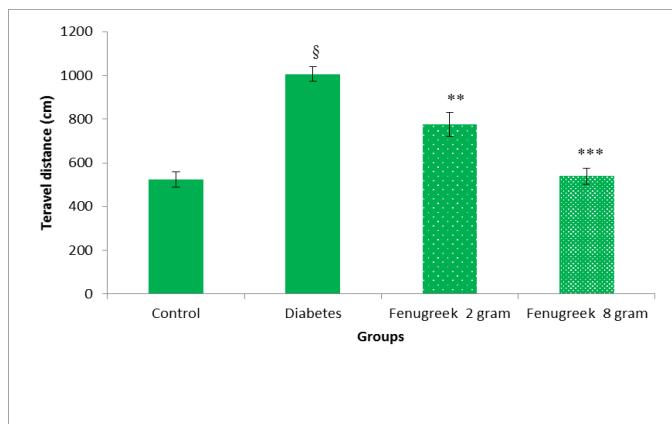


نمودار ۲: تأثیر مصرف شنبلیله (Fenugreek) با دوزهای ۲ و ۸ گرم، بر روی مدت زمانی که طول می‌کشد تا سکوی مخفی را پیدا کند (escape latency) در گروه‌های مورد مطالعه. داده‌ها به صورت Mean \pm SEM نشان داده شده‌اند. تفاوت گروه مصرف کننده عصاره شنبلیله در مقایسه با گروه دیابتی معنی دار است. معنی داری به صورت $P < 0.05$ * 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.

عصاره نسبت به گروه دیابتی به طور معنی داری کم تر است.

مسافتی که رت برای پیدا کردن سکوی مخفی طی می‌کند

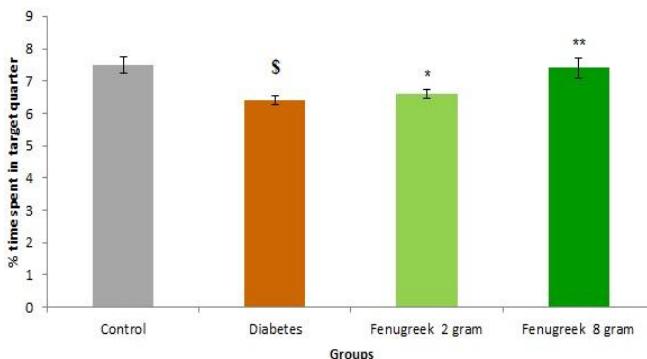
بر اساس نمودار ۳، مسافتی که رت برای پیدا کردن سکوی مخفی طی می‌کند در گروه‌های تیمار شده با



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 گروه‌های مورد مطالعه. داده‌ها به صورت Mean \pm SEM نشان داده شده‌اند. 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

مدت زمان باقی ماندن در ربع هدف

مدت زمان باقی ماندن در ربع هدف در گروه‌های تیمار شده با عصاره شنبلیله نسبت به گروه دیابتی بیشتر می‌باشد (نمودار ۴).

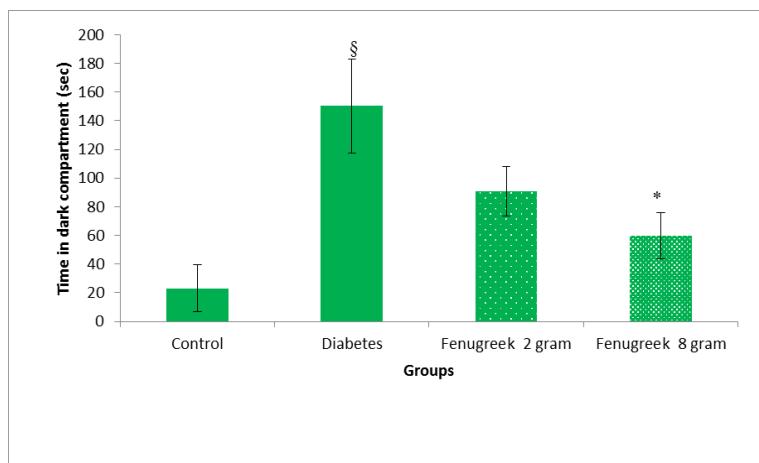


نمودار ۴: تأثیر مصرف شنبیله (Fenugreek) با دوزهای ۲ و ۸ گرم، بر روی مدت زمان باقی ماندن در ربع هدف (target quadrant) در گروه های مورد مطالعه. داده ها به صورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ نشان داده شده اند. تفاوت گروه مصرف کننده عصاره شنبیله در مقایسه با گروه دیابتی معنی دار است. معنی داری به صورت $P < 0.05$ * و $P < 0.01$ ** 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 اتفاقک تاریک

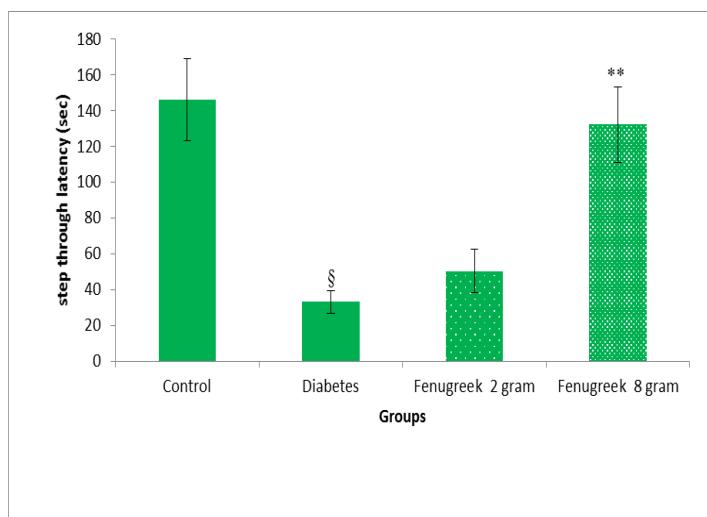
نتایج نشان می دهند که عصاره شنبیله سبب کاهش زمان ماندن در اتفاقک تاریک در گروه های تیمار شده نسبت به گروه دیابتی می شود (نمودار ۵).



نمودار ۵ : تأثیر مصرف شنبیله (Fenugreek) با دوزهای ۲ و ۸ گرم، بر روی زمان ماندن در اتفاقک تاریک در گروه های مورد مطالعه. داده ها به صورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ نشان داده شده اند. تفاوت گروه مصرف کننده عصاره شنبیله در مقایسه با دیابتی معنی دار است. معنی داری به صورت $P < 0.05$ * و $P < 0.01$ ** در مقایسه با گروه دیابتی و $P < 0.05$ [§] در مقایسه با گروه کنترل نمایش داده شده است

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).

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



نمودار ۶: تأثیر مصرف شببیله (Fenugreek) با دوزهای ۲ و ۸ گرم، بر روی سنجش زمان تأخیر در گروههای مورد مطالعه. داده ها به صورت $\text{Mean} \pm \text{SEM}$ نشان داده شده اند. تفاوت گروه مصرف کننده عصاره شببیله در مقایسه با گروه دیابتی معنی دار است. معنی داری به صورت $P < 0.05$ و $P < 0.001$ و $P < 0.01$ و $P < 0.0001$ در مقایسه با گروه دیابتی و $P < 0.05$ در مقایسه با گروه کنترل نمایش داده شده است.

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 شببیله سبب کاهش شاخص میزان اکسید اسیون لیپیدی در بافت های کبد، کلیه و قلب رت های دیابتی با استریتو زوسین می شود (۱۵). نتایج مطالعه Belguith و همکاران نیز نشان از اثر کاهنده میزان پراکسید اسیون لیپیدی توسط عصاره شببیله در رت های تغذیه شده با رژیم غنی از کلسترول داشت (۱۶). در مطالعه حاضر، عصاره شببیله سبب کاهش میزان پراکسید اسیون لیپیدی در گروه های تیمار شد. میزان کاهنده در دوز ۸ گرم شببیله به ازای هر کیلو گرم غذا نسبت به دوز ۲ گرم بیشتر بود.

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

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 شببیله به طور معنی داری سبب کاهش وزن در گروه های تیمار شده نسبت به گروه دیابتی شد. در تمامی گروه های دیابتی با استریتوزو توسمین و نیکوتین آمید، میزان وزن رت ها پس از دیابتی شدن افزایش یافت در حالی که با مصرف شببیله با دوز کم و زیاد، وزن رت ها پس از چهار هفته تجویز، در مقایسه با گروه دیابتی کاهش یافتدند. نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعه Handa و همکاران که در آن تأثیر عصاره شببیله روی بافت های مختلف باعث کاهش وزن می شد، هم خوانی دارد (۱۳).

و همکاران تأثیر تریژونلین که ماده موثره گیاه شنبه‌لیله است را روی بیماری‌های 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 موش‌های 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 موش‌های دیابتی نیز شد که این نتایج در گروه‌های تیمار شده نسبت به گروه کنترل دیابتی معنی دار بود. اثرات سودمند شنبه‌لیله روی هیپوکمپ رت‌های دیابتی در این نتایج این تحقیق مشخص گردید و داده‌ها 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 شنبه‌لیله بر حافظه و یادگیری موش‌های دیابتی را نشان داد و جلوگیری از تخریب سلول‌های عصبی در هیپوکامپ، می‌تواند به دلیل فعالیت آنتی اکسیدان این گیاه باشد.

سپاسگزاری:

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

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 شنبه‌لیله 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 رت‌های دیابتی درمان شده با عصاره شنبه‌لیله 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، مکانیزم‌های اختلال در توانایی‌های شناختی در دیابت مشخص نشده است. دیابت با تأثیر بر شکنج دندانه - دار هیپوکامپ موجب اختلال در روند‌های شناختی و یاد گیری می‌گردد (۱۱). در دیابت مکانیسم‌های مختلفی جهت اختلال در حافظه و یاد گیری پیشنهاد شده است که برخی از آن‌ها شامل: (۱) استرس اکسیداتیو ناشی از تشديد تشکیل رادیکال‌های 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 می‌کند. 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 فیبر‌های عصبی می‌شود. لذا با توجه به این یافته‌ها، دیابت سبب کاهش اختلال حافظه و یاد گیری می‌شود (۱۸). در مطالعه Ooifyi Min و همکاران، عصاره شنبه‌لیله 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 شنبه‌لیله دارای اثر ضد نوروپاتی و بازیابی عملکرد رشته‌های عصبی می‌باشد (۲۰).

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 Care*2013;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 Pract*2004;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 Biol*2005;38:539.
- 4.Kashihara N, Haruna Y, Kondeti V, Kanwar Y. Oxidative stress in diabetic nephropathy. *Curr Med Chem*2010;17:4256.
- 5.Smith M. Therapeutic applications of fenugreek. *Alt Med Rev*2003;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 Biochem*2013;1:1-6.
- 7.Xu X, Xiao H, Zhao J, Zhao T. Cardioprotective effect of sodium ferulate in diabetic rats. *Int J Medical Sci*2012;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 J*2013;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 let*2000;293:91-4.
- 12.Galer BS, Giana A, Jensen MP. Painful diabetic polyneuropathy: epidemiology , pain description, and quality of life. *Diabetes Res Clin pract*2000;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 biochemistry*2005; 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 Food*2005; 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 Food*2014;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 Neurol*2006;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 J*2011;5:22-34.
- 20.Moghadam FH, Vakilizarch B, Shafee M, Mirjalili A, Yazd I. Fenugreek seed extract treats peripheral neuropathy in pyridoxine induced neuropathic mice. *Exp Clin Sci*2013;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 M¹, Kassaei 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 I 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 anaesthetised 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 hippocampus 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: kassaei2001@yahoo.com