

# اثر مصرف خوراکی بخش هوایی گیاه قره‌قاپ سیاه بر یادگیری و حافظه موش صحرایی دیابتی

## چکیده

**زمینه و هدف:** دیابت قندی با اختلال در روندهای مرتبط با یادگیری، حافظه و شناخت در جامعه انسانی و حیوانات آزمایشگاهی مشخص می‌گردد. شواهدی مبنی بر اثر ضد دیابتی گیاه قره‌قاپ سیاه و اثربخشی مصرف میوه آن بر یادگیری و حافظه در موشهای سالم وجود دارد؛ لذا این مطالعه با هدف بررسی اثر تجویز خوراکی و درازمدت این گیاه بر یادگیری و حافظه در موشهای صحرایی دیابتی انجام شد.

**روش بررسی:** در این مطالعه که از نوع تجربی است، موشهای صحرایی ماده (n=36) به طور تصادفی به 4 گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با گیاه قره‌قاپ، دیابتی و دیابتی تحت درمان با گیاه قره‌قاپ، تقسیم‌بندی شدند. دو گروه تحت تیمار نیز از غذای موش حاوی 6/25٪ گیاه به مدت 4 هفته، بدون محدودیت، استفاده نمودند. برای دیابتی نمودن موشها، از استرپتوزوتوسین (streptozotocin) به فرم تک دوز و داخل صفاقی، به میزان 60 میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان استفاده گردید. بعلاوه، برای بررسی حافظه و یادگیری حیوانات، میزان عملکرد از نظر تأخیر اولیه و تأخیر در حین عبور در آزمون اجتنابی غیرفعال و در صد رفتار تناوب با استفاده از ماز Y در پایان کار تعیین گردید. از آزمون‌های One-way ANOVA و Repeated measure ANOVA، برای آنالیز نتایج وزن و گلوکز و از آزمون Kruskal-Wallis، برای آنالیز داده‌های تست رفتاری استفاده گردید.

**یافته‌ها:** در موشهای دیابتی و دیابتی تحت تیمار با قره‌قاپ، در مورد تأخیر اولیه، افزایش معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل بدست آمد (p<0/05). 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 کار بخوبی مشاهده گردید. تیمار موشهای گروه کنترل با گیاه، تغییر معنی‌دار تأخیر در حین عبور را در مقایسه با گروه کنترل بدنال داشت (p<0/05). درصد تناوب نیز در حیوانات دیابتی، به طور معنی‌دار کمتر از گروه کنترل بود (p<0/05) و درصد تناوب در گروه دیابتی تحت تیمار با قره‌قاپ، تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی نشان نداد و تجویز گیاه به گروه کنترل نیز تغییر معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل ایجاد نکرد.

**نتیجه‌گیری:** گیاه قره‌قاپ موجب تقویت توانایی نگهداری اطلاعات در حافظه و به یادآوری آنها در حیوانات دیابتی می‌گردد.

کلیدواژه‌ها: ۱- گیاه قره‌قاپ ۲- یادگیری ۳- حافظه ۴- دیابت قندی

تاریخ دریافت: ۸۶/۲/۱۶، تاریخ پذیرش: ۸۶/۵/۱۳

## مقدمه

بیماری دیابت قندی یکی از شایع‌ترین بیماری‌های سیستم غدد درون‌ریز بدن محسوب می‌شود که براساس پیش‌بینی بعمل آمده، شیوع آن در جامعه انسانی در آینده افزایش خواهد یافت.<sup>(۱)</sup> کمبود و یا کاهش نسبی میزان انسولین در

(I) دانشیار فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی و گروه علوم اعصاب، مرکز تحقیقات پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران (\* مؤلف مسؤل).

(II) دانشیار فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی ایران، تهران، ایران.

(III) دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

روندهای حافظه و یادگیری فضایی ایفا می‌نماید، می‌گردد.<sup>(۴)</sup> همچنین، حالت دیابت قندی موجب کاهش بیان آنزیم نیتریک اکسید سنتاز نورونی که نقش مهمی در پلاستیسیته سیناپسی و روندهای یادگیری و حافظه ایفا می‌کند، در ناحیه هیپوکامپ می‌گردد که این مسأله تا حدودی توجیه کننده بروز اختلالات در یادگیری، حافظه و تقویت درازمدت در حیوانات دیابتی می‌باشد.<sup>(۷)</sup> همچنین کاهش بیان پروتئین‌های گروه NCAM (Neural cell adhesion molecules) در نواحی مختلف مغز حیوانات دیابتی شامل هیپوکامپ، مخچه و قشر مغز می‌تواند برخی نقائص شناختی مرتبط با دیابت قندی را بخوبی توجیه نماید.<sup>(۸)</sup>

با توجه به افزایش دانش بشری در مورد هتروژن بودن این بیماری، نیاز برای یافتن ترکیبات مؤثر با عوارض جانبی کمتر در جلوگیری یا درمان دیابت یا مشکلات ناشی از آن، شدیداً احساس می‌گردد.

گیاهان دارویی و مشتقات آنها اگر چه از دیرباز در درمان دیابت قندی و عوارض ناشی از آن مطرح بوده‌اند، ولی در مورد اثربخشی قطعی بسیاری از آنها تا کنون شواهد تحقیقاتی و معتبر یافت نمی‌شود<sup>(۹)</sup>؛ در این ارتباط، گیاه قره‌قاپ یک گیاه دارویی با خواص ضداسهال، جمع کننده رادیکال‌های آزاد، محافظ سلول در برابر آسیب‌های شیمیایی شامل سموم محیطی، کاهش دادن پراکسیداسیون لیپیدی و محافظت کبد در برابر انواع استرس‌ها می‌باشد که علت اصلی آن، سطح بالای مواد آنتی‌اکسیدانت در این گیاه می‌باشد.<sup>(۱۰-۱۳)</sup> از طرف دیگر براساس منابع طب سنتی، دم کرده برگ و میوه برای بیماری قند، فشارخون، تورم کولون و رفع اسهال مفید است. برگ آن نیز در رفع ناراحتی مخاطی مثانه و مجاری ادراری مفید است.<sup>(۱۴ و ۱۵)</sup>

با توجه به نقش استرس اکسیداتیو و تغییرات آنزیمی در بروز برخی تغییرات بیوشیمیایی و بافتی نامطلوب ناشی از دیابت قندی<sup>(۱ و ۲)</sup>، هدف مطالعه حاضر تعیین اثر تجویز خوراکی و درازمدت بخش هوایی قره‌قاپ بر یادگیری و حافظه در موشهای صحرایی دیابتی با استفاده از آزمون‌های اجتنابی غیرفعال و ماز Y بود.

این بیماری، بویژه دیابت قندی تیپ ۱، با عوارض متابولیکی حاد نظیر کتواسیدوز و اغمای هیپراسمولار و با یک اختلال متابولیک مزمن و عوارض نامطلوب در درازمدت نظیر انواع مختلف نوروپاتی (شامل منونوروپاتی، پلی‌نوروپاتی، و نوروپاتی اتونومیک)، رتینوپاتی، گرفتاری عروق کلیوی، ضایعات پوستی و اختلالات در سیستم قلب و گردش خون همراه می‌باشد.<sup>(۳)</sup>

نوروپاتی یکی از مهم‌ترین مشکلات بالینی و یکی از علل مرگ و میر در بیماران مبتلا به دیابت قندی محسوب می‌گردد. براساس یافته‌های 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 رژنراسیون در اعصاب محیطی بدن و تغییرات مورفولوژیک در فیبرهای عصبی) همراه می‌باشد.<sup>(۳)</sup> از طرف دیگر مشخص شده است که بروز حالت دیابت، یکی از ریسک فاکتورهای مهم در ایجاد حالت دمانس پیری می‌باشد که خود از علائم ظاهر شده در بیماری آلزایمر محسوب می‌گردد.<sup>(۴)</sup> هر چند تا کنون تحقیقات زیادی در خصوص ارتباط 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 می‌شود.<sup>(۵)</sup>

براساس شواهد تحقیقاتی موجود، حالت دیابت قندی بویژه نوع ۱ موجب بروز اختلال در روندهای مرتبط با یادگیری، حافظه و شناخت در حیوانات مبتلا می‌گردد؛ در این خصوص یک ارتباط تنگاتنگ بین بروز دیابت قندی و ظهور نقائص در یادگیری و حافظه در موجودات آزمایشگاهی یافت می‌شود که البته مکانیسم‌های مسؤول بروز این اختلالات بخوبی مشخص نشده است، هر چند برای دو فرضیه میکروواسکولار و استرس اکسیداتیو ناشی از تشدید تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن شواهد زیادی یافت می‌گردد.<sup>(۶)</sup> بعلاوه، حالت دیابت از نظر ساختمانی موجب کاهش بارز تراکم نورونی در ناحیه شکنج دندان‌دار که نقش مهمی در

## روش بررسی

در این مطالعه تحقیقاتی که از نوع تجربی است، از ۳۶ راس موش صحرایی ماده سفید نژاد ویستار (انستیتو پاستور، تهران) در محدوده وزنی  $213 \pm 7/5$  گرم استفاده شد. تمام حیوان‌ها در دمای ۲۳-۲۱ درجه سانتی‌گراد در گروه‌های ۳ تا ۴ تایی در هر قفس قرار داده شدند. حیوان‌ها آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای مخصوص موش (شرکت خوراک دام پارس، کرج) و یا غذای مخلوط شده با پودر بخش هوایی قره‌قاپ به نسبت مورد نظر (۶/۲۵٪)، به مدت ۴ هفته دسترسی داشتند.

برای تهیه غذا، پس از تأیید علمی، پودر بدست آمده از آسیاب نمودن بخش هوایی قره‌قاپ با نسبت وزنی ۶/۲۵٪ با غذای پودر شده و استاندارد موش، مخلوط و مجدداً غذای حیوان تولید گردید.<sup>(۱۶)</sup> در این بررسی از آن دسته موشهای صحرایی ماده استفاده شد که در شرایط طبیعی، بدون برقراری حالت روزه‌داری، میزان گلوکز سرم آنها کمتر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود. در این خصوص از شبکه رترواوربیتال و لوله موئینه برای خونگیری استفاده شد. موشها به طور تصادفی به ۴ گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با قره‌قاپ، دیابتی و دیابتی تحت تیمار با قره‌قاپ تقسیم شدند. تیمار با گیاه به مدت ۴ هفته ادامه یافت. برای دیابتی نمودن موشها، از داروی استرپتوزوتوسین (Streptozotocin=STZ) به صورت تک دوز و داخل صفاقی به میزان ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم حل شده در محلول سالین فیزیولوژیک سرد استفاده شد. اندازه‌گیری میزان گلوکز سرم توسط روش آنزیمی گلوکز اکسیداز (زیست شیمی) قبل از انجام کار و در طی هفته‌های ۲ و ۴ پس از بررسی به انجام رسید.

برای بررسی رفتار احترازی غیرفعال، از یک دستگاه به ابعاد  $20 \times 80 \times 20$  سانتی‌متر (شاتل باکس) دارای یک محفظه روشن و یک محفظه تاریک استفاده شد. از میله‌های 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 میلی‌آمپر و به مدت یک ثانیه اعمال گردید. در این مطالعه، روش بررسی رفتار احترازی غیرفعال پس از بررسی به شرح زیر بود:

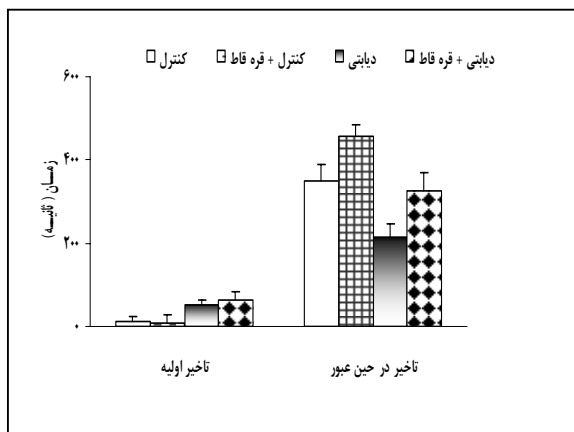
الف - سازش (Adaptation): در این مرحله، قبل از شروع آزمایش، هر حیوان برای ۲ روز متوالی حداقل به مدت ۵ دقیقه در داخل دستگاه قرار داده شد.

ب - اکتساب (Acquisition): در این مرحله (روز سوم) حیوان در محفظه روشن قرار داده می‌شد و به مدت ۲ دقیقه، این محفظه تاریک نگه داشته می‌شد. در این مدت در گیلوتینی ارتباط دهنده محفظه روشن و تاریک کاملاً بسته بود. در انتهای دوره، لامپ محفظه روشن شده و در گیلوتینی باز می‌گردید. به محض باز کردن در، کورنومتر بکار انداخته می‌شد و مدت زمانی که طول می‌کشید تا حیوان از محفظه روشن به محفظه تاریک برود، یادداشت می‌گردید که این مدت زمان تحت عنوان تاخیر اولیه یا IL (Initial latency) اطلاق گردید (ملاک برای ورود حیوان به محفظه تاریک، عبور اندام‌های حرکتی پشتی حیوان از در ارتباط دهنده دو محفظه بود). سپس، در پایین آورده می‌شد و یک تک شوک به حیوان وارد می‌آمد. در پایان کار پس از ۱ دقیقه، حیوان به قفس منتقل می‌گردید. در ارتباط با این مرحله، موشهای با تأخیر اولیه بیش‌تر از ۶۰ ثانیه از آزمایشات حذف گردیدند.

ج - نگهداری اطلاعات (Retention): این مرحله ۲۴ ساعت پس از مرحله دوم در روز چهارم انجام پذیرفت. این مرحله مشابه مرحله قبل بود با این تفاوت که زمانی که حیوان به محفظه تاریک وارد می‌شد، هیچ گونه شوکی را دریافت نمی‌کرد. در این مرحله، تاخیر در حین عبور یا STL (Step-through latency) اندازه‌گیری گردید. منظور از STL، مدت زمانی است که قبل از آنکه حیوان وارد محفظه تاریک شود، در محفظه روشن باقی می‌ماند.

آزمون Y-maze در پایان کار، ۳-۲ روز قبل از تست رفتار اجتنابی، انجام پذیرفت. در این ارتباط میزان عملکرد حیوانات از نظر حافظه کاری از طریق مشاهده و اندازه‌گیری نمودن رفتار تناوب خودبخودی حیوان، در یک جلسه کاری مورد بررسی قرار گرفت. ماز مربوط به این آزمون از جنس

افزایش معنی‌دار در مورد تأخیر اولیه در مقایسه با گروه کنترل بدست آمد ( $p < 0/05$ ). بعلاوه، از نظر تأخیر اولیه هیچ گونه تفاوت معنی‌دار 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 می‌باشد. 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 کار بخوبی مشاهده گردید. از طرف دیگر، تیمار موشهای گروه کنترل با گیاه، تغییر معنی‌دار تأخیر در حین عبور را در مقایسه با گروه کنترل به دنبال داشت ( $p < 0/05$ ) (شکل شماره ۱).



شکل شماره ۱- میزان تأخیر اولیه و تأخیر در حین عبور در آزمون اجتنابی غیرفعال در موشهای صحرایی کنترل و دیابتی تیمار شده با قره‌قاپ به صورت خوراکی پس از گذشت ۴ هفته  
\* $P < 0/05$  (در مقایسه با گروه کنترل)، # $P < 0/05$  (در مقایسه با گروه دیابتی)

نتایج تست ماز Y نیز نشان داد که درصد تناوب که شاخصی از حافظه فضائی می‌باشد، در حیوانات دیابتی به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود ( $p < 0/05$ )، درصد تناوب در گروه دیابتی تحت تیمار با قره‌قاپ، تفاوت معنی‌داری با گروه دیابتی نشان نداد و تجویز گیاه به گروه کنترل نیز تغییر معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل ایجاد نکرد (شکل شماره ۲).

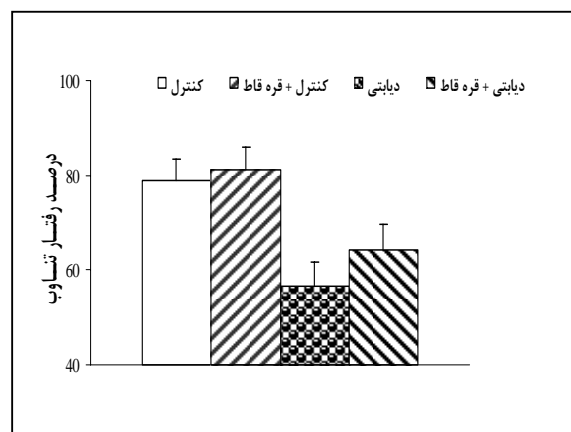
پلکسی گلاس بود و هر بازو دارای ابعاد  $15 \times 30 \times 40$  سانتی‌متر بود که بازوها از طریق یک محوطه مرکزی به هم متصل می‌گردیدند. برای انجام آزمون، هر موش صحرایی در قسمت انتهایی یک بازو قرار داده می‌شد و امکان دسترسی آزاد آن به تمام نواحی ماز در یک پریود زمانی ۸ دقیقه فراهم می‌گردید. تعداد دفعات ورود حیوان به داخل هر بازو با مشاهده نمودن ثبت می‌گردید. ورود حیوان به داخل یک بازو زمانی بود که پاهای عقبی حیوان به طور کامل در داخل بازو قرار می‌گرفت. رفتار تناوب به عنوان ورودهای موفق و پشت سر هم (سریال) به داخل تمام بازوها در مجموعه‌های سه‌تایی در نظر گرفته شد. بدین ترتیب درصد تناوب، از نسبت تناوب مشاهده شده به حداکثر تناوب (۲ - تعداد کل بازوهای وارد شده)  $100 \times$  محاسبه گردید.

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 داده‌های تست رفتاری استفاده گردید. در تمام بررسی‌ها،  $p < 0/05$  به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

#### یافته‌ها

از نظر میزان گلوکز سرم در هفته‌های ۲ و ۴، میزان گلوکز سرم در دو گروه دیابتی و دیابتی تحت تیمار با قره‌قاپ، در حد معنی‌دار ( $p < 0/001$  و  $p < 0/005$ )، بیش‌تر از گروه کنترل بود، هر چند که در گروه دیابتی تحت درمان، میزان گلوکز سرم به طور معنی‌دار در هفته‌های ۲ و ۴ کمتر از گروه دیابتی درمان نشده بود ( $p < 0/01$ ). بعلاوه گروه کنترل تحت تیمار، تفاوت معنی‌دار را در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد هر چند که میزان گلوکز در گروه کنترل تحت درمان به میزان مختصر کمتر بود. در موشهای دیابتی و دیابتی تحت تیمار با قره‌قاپ،

دیابتی شدن تحت تأثیر قرار می‌گیرند. در این ارتباط بروز دیابت قندی موجب تشدید استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی در برخی نواحی مغزی شامل هیپوکامپ شده<sup>(۱۷ و ۱۸)</sup> و سطح فاکتورهای رشد شبه انسولین (Insulin like growth factor=IGF) و فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (Brain derived neurotrophic factor=BDNF) در برخی نواحی مغز کاهش می‌یابد.<sup>(۱۹-۲۲)</sup> در بررسی حاضر مشخص شد که وجود حالت دیابت به مدت ۴ هفته موجب افزایش تأخیر اولیه در موشهای دیابتی می‌شود که این مسأله تا حدودی دال بر افزایش توانایی حیوان در کسب اطلاعات و مهارت‌های جدید و تا حدود زیاد معرف کاهش تحرک حیوان می‌باشد که با نتایج تحقیق بایداس و همکاران مطابقت دارد، هر چند که مدت بررسی محققان اخیر کمتر از بررسی حاضر بوده است.<sup>(۸)</sup> بعلاوه، محققان اخیر کاهش توانایی حیوانات دیابتی را در ارتباط با تثبیت و به یادآوری اطلاعات انبار شده پس از یک ماه گزارش نموده‌اند که همین نتیجه در بررسی حاضر نیز بدست آمد. براساس شواهد موجود، تغییرات حاصله در این توانایی‌ها را می‌توان به تغییرات پلاستیسیته سیناپسی در ناحیه هیپوکامپ و در نتیجه ایجاد اختلال در روند LTP (long-term potentiation) نسبت داد. البته شایان ذکر است که هر چند این تغییرات بیش‌تر در تثبیت اطلاعات دخالت دارند ولی براساس شواهد تحقیقاتی جدید به میزان کمتر در فراگیری مهارت‌های جدید و پیچیده نیز می‌توانند دخالت داشته باشند.<sup>(۲۲ و ۲۳)</sup> بعلاوه، در بررسی حاضر اثر سودمند مصرف خوراکی و مزمن قره‌قاپ بر یادگیری و حافظه از نظر کسب اطلاعات جدید و حفظ و به یادآوری اطلاعات انبار شده در حیوانات دیابتی پس از ۴ هفته، با استفاده از آزمون اجتنابی غیرفعال مورد تأیید قرار گرفت. در این خصوص قبلاً مشخص شده است که بروز دیابت قندی در موش کوچک آزمایشگاهی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین، موجب افزایش استرس اکسیداتیو ناشی از تشدید تشکیل رادیکال‌های فعال اکسیژن در برخی نواحی مغز بخصوص در دو ناحیه هیپوکامپ و قشر مغز که خود از



شکل شماره ۲- میزان درصد تناوب در آزمون ماز Y در موشهای صحرایی کنترل و دیابتی تیمار شده با قره‌قاپ بصورت خوراکی پس از گذشت ۴ هفته.

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

## بحث

نتایج این بررسی نشان داد که تجویز خوراکی و دراز مدت قره‌قاپ با نسبت وزنی ۲۵٪ به مدت ۴ هفته در موشهای دیابتی، تغییر معنی‌داری در میزان گلوکز سرم ایجاد می‌نماید. بعلاوه، در موشهای دیابتی و دیابتی تحت تیمار با قره‌قاپ، افزایش معنی‌داری در مورد تأخیر اولیه در مقایسه با گروه کنترل بدست آمد. همچنین، کاهش تأخیر در حین عبور در موشهای دیابتی و افزایش آن در موشهای دیابتی تحت تیمار، در پایان کار بخوبی مشاهده گردید. از طرف دیگر درصد تناوب در حیوانات دیابتی کمتر از گروه کنترل بود و تجویز گیاه به گروه کنترل نیز تغییر معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل ایجاد نمود.

براساس یافته‌های 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 می‌باشد. هر چند که مکانیسم بروز این اختلالات در جامعه دیابتی بخوبی شناخته نشده است، ولی مشخص شده است که دو ناحیه قشر مغز و هیپوکامپ که از نواحی اصلی مرتبط با این روندها محسوب می‌شوند، به میزان زیاد به دنبال

قره‌قاپ سیاه موجب تقویت توانایی نگهداری اطلاعات در حافظه و به یادآوری آنها در حیوانات دیابتی می‌گردد.

#### تقدیر و تشکر

این تحقیق با استفاده از حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه شاهد در قالب طرح تحقیقاتی انجام گردیده است که بدین وسیله نویسندگان مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از مسئولین آن مرکز و سرکار خانم فریبا انصاری، کارشناس گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی شاهد به جهت کمک به انجام آزمایشات، ابراز می‌دارند.

#### فهرست منابع

- 1- Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes mellitus: complications and therapeutics. *Med Sci Monit* 2006; 12: RA130-47.
- 2- Wandell PE. Quality of life of patients with diabetes mellitus. An overview of research in primary health care in the Nordic countries. *Scand J Prim Health care* 2005; 23: 68-74.
- 3- Galer BS, Gianas A, Jensen MP. Painful diabetic polyneuropathy: epidemiology, pain description, and quality of life. *Diabetes Res Clin Pract* 2000, 47: 123-8.
- 4- 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: 91-4.
- 5- 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 Neurol Sci* 2001; 182: 99-106.
- 6- 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.
- 7- 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: 1801-4.

نواحی اصلی یادگیری و حافظه محسوب می‌گردند، می‌شود<sup>(۲۰)</sup> و از طرف دیگر گیاه قره‌قاپ موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی می‌گردد و سطح پارامترهای مربوطه را کاهش می‌دهد.<sup>(۱۳، ۱۰)</sup> با توجه به این موضوع که دیابت قندی با تشدید روند استرس اکسیداتیو همراه بوده و بخشی از تغییرات بیوشیمیایی خون در دیابت قندی بویژه در دیابت وابسته به انسولین از این طریق توجیه می‌گردد<sup>(۲۱)</sup>، لذا بخشی از اثرات سودمند این گیاه در مطالعه حاضر را می‌توان به کاهش دادن پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو نسبت داد که با نتایج تحقیقات قبلی در مورد اثرات سودمند این گیاه تا حدودی همخوانی دارد.<sup>(۱۳)</sup> از طرف دیگر بخشی از اثرات مشاهده شده مصرف این گیاه در بررسی حاضر را می‌توان به درصد بالای آنتوسیانین‌ها با خواص محافظت کننده نسبت داد.<sup>(۱۰)</sup>

از جمله محدودیت‌های بررسی حاضر و مطالعات مشابه این است که غذای تهیه شده حاوی گیاه به طور آزاد و بدون اعمال محدودیت، در اختیار حیوانات تحت درمان قرار می‌گیرد، لذا این احتمال وجود دارد که تمام حیوانات به یک میزان از گیاه استفاده نکرده باشند و این مسأله می‌تواند تفاوت‌های کمتر بین گروه‌های مورد مطالعه و پراکنش بیشتر داده را در یک چنین مطالعاتی توجیه کند. البته هدف اصلی کار این نبوده است که همه حیوانات به یک میزان از غذای حاوی گیاه مصرف کنند و مقدار مصرف غذا در واقع به میزان تمایل حیوان برای مصرف بستگی داشته است که در این خصوص مقالات متعدد در طی سالیان اخیر یافت می‌شود. به عبارت دیگر هدف از این گونه تحقیقات اینست که گفته شود اگر در جامعه انسانی یک رژیم غذایی حاوی یک گیاه خاص بیشتر استفاده شود (که در اینجا مقدار مصرف به عوامل فیزیولوژیک متعدد بستگی داشت)، احتمال بروز عوارض بیماری می‌تواند کاهش یابد.

#### نتیجه گیری

مصرف خوراکی و دراز مدت بخش هوایی

- 8- 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: 1907-16.
- 9- Scartezzini P, Speroni E. Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. *J Ethnopharmacol* 2002; 71: 23-43.
- 10- Rahman MM, Ichiyani T, Komiyama T, Hatano Y, Konishi T. Superoxide radical- and peroxynitrite-scavenging activity of anthocyanins; structure-activity relationship and their synergism. *Free Radic Res*, 2006; 40(9): 993-1002.
- 11- Yao Y, Vieira A. Protective activities of Vaccinium antioxidants with potential relevance to mitochondrial dysfunction and neurotoxicity. *Neurotoxicol* 2006; 28(1): 93-100.
- 12- Ichiyani T, Shida Y, Rahman MM, Hatano Y, Konishi T. Bioavailability and tissue distribution of anthocyanins in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) extract in rats. *J Agric Food Chem* 2006; 54(18): 6578-87.
- 13- Ramirez MR, Izquierdo I, do Carmo Bassols Raseira M, Zuanazzi JA, Barros D, Henriques AT. Effect of lyophilised vaccinium berries on memory, anxiety and locomotion in adult rats. *Pharmacol Res* 2005; 52(6): 457-62.
- ۱۴- عبدالرحمن شرفکندی، قانون در طب، جلد ۳، چاپ سوم، تهران، انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۷۰، صفحه: ۳۰-۲۲۰.
- ۱۵- حسین میرحیدر، معارف گیاهی: کاربرد گیاهان در پیشگیری و درمان بیماری‌ها، جلد ۱، چاپ اول، تهران، انتشارات امیرکبیر، ۱۳۷۵، صفحه: ۵-۱۳۱.
- 16- Swanston-Flatt SK, Day C, Bailey CJ, Flatt PR. Evaluation of traditional plant treatment for diabetes: studies in streptozotocin diabetic mice. *Acta Diabetologica Latina* 1989; 26: 51.
- 17- 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: 512-23.
- 18- Biessles 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.
- 19- Nitta A, Murai R, Suzuki N, Ito H, Nomoto H, Katoh G, et al. Diabetic neuropathies in brain are induced by deficiency of BDNF. *Neurotoxicol Teratol* 2002; 24: 695-701.
- 20- Mayer G, Nitsch R, Hoyer S. Effects of changes in peripheral and cerebral glucose metabolism on locomotor activity, learning and memory in adult rats. *Brain Res* 1990; 532: 95-100.
- 21- 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: 169-78.
- 22- Sima AA, Li ZG. The effect of C-peptide on cognitive dysfunction and hippocampal apoptosis in type 1 diabetic rats. *Diabetes* 2005; 54: 1497-505.
- 23- 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: 345-51.

# The Effect of Oral Feeding of Aerial Part of *Vaccinium Myrtillus* on Learning and Memory in Diabetic Rats

<sup>I</sup>  
\*M. Roghani, PhD

<sup>II</sup>  
T. Baluch Nejad Mojarad, PhD

<sup>III</sup>  
S. Taheri

## Abstract

**Background & Aim:** Diabetes mellitus accompanies disturbances in learning, memory, and cognitive skills in the human society and experimental animals. There is some evidence for anti-diabetic activity of *Vaccinium myrtillus* (VM) and the beneficial effect of its fruit on learning and memory in normal animals. Therefore, this research study was conducted to evaluate the effect of chronic oral administration of VM on learning and memory in diabetic rats.

**Material and Methods:** In this experimental study, female Wistar rats (n=36) were divided randomly into four: control, VM-treated control, diabetic, and VM-treated diabetic groups. Treatment groups received rat chow containing 6.25% VM with no restriction for 4 weeks. For induction of diabetes, streptozotocin was injected i.p. at a single dose of 60 mg/kg. For evaluation of learning and memory, initial (IL) and step-through latencies (STL) were determined at the end of study using passive avoidance test and alternation behavior percentage was obtained using Y maze. For statistical analysis, one-way ANOVA and repeated measure ANOVA were used for weight and glucose data and Kruskal-Wallis test was used for behavioral parameters.

**Results:** There was a significant increase in IL in diabetic and VM-treated diabetic groups after 4 weeks as compared to control group (P<0.05). Meanwhile, STL significantly decreased (P<0.05) in diabetic group and significantly increased (P<0.05) in VM-treated diabetic group. In addition, STL did not significantly change in VM-treated control group in comparison with control group (P<0.05). Alternation percentage was significantly lower in diabetic group relative to control (P<0.05), treated diabetic group did not show a significant difference in comparison with diabetic group, and VM treatment in control group also did not produce a significant difference as compared to control.

**Conclusion:** VM treatment could enhance the capability of consolidation and recall in diabetic animals.

**Key Words:** 1) *Vaccinium Myrtillus* 2) Learning 3) Memory 4) Diabetes Mellitus

<sup>I</sup>) Associate Professor of Physiology, Department of Physiology, Medicinal Plant Research Center, Department of Neural Science, Medical Research Center, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran. (\*Corresponding Author)

<sup>II</sup>) Associate Professor of Physiology, Department of Physiology, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran

<sup>III</sup>) Student of Medicine, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran.