بررسی اثر ریشه کودزو بر اختلالات حافظه و یادگیری موش‌های صحرایی نر دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

محبوبه محبوبی[۱]، پیراسته نوروزی[۲]، مهدی خاکساری*[۳]، حمید کلالیان مقدم[۳]

۱- کارشناس ارشد فیزیولوژی، آموزش و پرورش گنبد، گلستان، ایران
۲- کارشناس ارشد فیزیولوژی، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران
۳- استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۲/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۲/۲۲

چکیده

مقدمه

تحقیقات اخیر نشان داده است که بیماری دیابت منجر به بروز اختلالات حرکتی و شناختی و نقص در یادگیری می‌شود. ریشه کودزو یک ساپونین و ایزو فلاونین می‌باشد که اغلب به عنوان عامل کاهنده قند خون مورد استفاده قرار می‌گیرد. کودزو توانایی کاهش گلوکز خون از مسیر غیر وابسته به انسولین را داشته که از این لحاظ مشابه با متفورمین عمل می‌نماید و همچنین با حذف رادیکال‌های آزاد منجر به کاهش استرس اکسیداتیو می‌گردد. مطالعه حاضر به منظور ارزیابی اثر ریشه کودزو بر یادگیری، شناخت فضایی و عملکرد حرکتی در موش‌های صحرایی نر دیابتی انجام شد.

مواد و روش‌ها

در مطالعه تجربی حاضر، موش‌های نر نژاد ویستار به ۳ گروه کنترل، دیابتی و دیابتی تیمار شده با کودزو تقسیم شدند. دیابت بوسیله تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین (با دوز ۵۰mg/kg) ایجاد گردید. یک هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین، تیمار با کودزو با دوز ۵۰mg/kg به مدت شش هفته بصورت گاواژ انجام شد. در پایان، گروه‌ها با آزمون‌های رفتاری شناخت فضایی، شناخت اشیاء و آزمون حرکتی بارفیکس مورد ارزیابی قرار گرفتند.

یافته‌ها

در آزمون شناخت فضایی، شناخت اشیاء، بارفیکس، تعداد حرکت‌های حیوان و نیز تعداد ایستادن در بازوهای Y maze، در گروه دیابتی تیمار شده با کودزو، افزایش معنی‌داری نسبت به گروه دیابتی داشت.

نتیجه‌گیری

تجویز ریشه کودزو به مدت ۶ هفته می‌تواند منجر به بهبود اختلالات شناختی از جمله حافظه و یادگیری و نیز اختلالات حرکتی در موش‌های صحرایی دیابتی گردد.

کلیدواژه‌ها

دیابت ملیتوس، ریشه کودزو، حافظه، یادگیری، اختلالات حرکتی

* **نویسنده مسئول:** مهدی خاکساری، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران
پست الکترونیک: Khaksari417@yahoo.com
تلفن: ۰۲۳-۳۲۳۹۵۰۵۴

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:45 IRST on Saturday November 18th 2017

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:45 IRST on Saturday November 18th 2017

مقدمه

دیابت ناشی از اختلال در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌هاست که بر اثر فقدان ترشح انسولین یا کاهش حساسیت بافت‌ها به انسولین ایجاد می‌شود (۱). این بیماری عوارض حاد و مزمن بسیاری بر اندام‌های مختلف دارد و اختلالاتی چون نوروپاتی (۲)، نفروپاتی (۳) و رتینوپاتی (۴)، اختلال در رفتارهای جنسی و بافت تولید مثلی (۵) ایجاد می‌کند. افزایش قندخون از چند مسیر جداگانه استرس اکسیداتیو را القا می‌نماید،که می‌توان عدم تعادل اکسیداسیون و احیاء، افزایش، فعالیت آلدوز ردوکتاز (۶)، افزایش محصولات نهایی گلیکوزیلاسیون (۷)، تغییر در فعالیت پروتئین کیناز C، اختلال در تعادل پروستانوئیدها (۸) و افزایش تولید سوپراکسیدهای میتوکندریایی اشاره کرد (۹). بطور کلی دیابت با ایجاد رادیکال‌های آزاد و استرس اکسیداتیو، منجر به اکسیداسیون لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA می‌گردد و اختلال در عملکرد DNA میتوکندریایی از بارزترین آسیب‌های متابولیسمی این بیماری می‌باشد (۶). از طرف دیگر بافت مغز غنی از فسفولیپیدهایی است که می‌تواند مورد حمله گونه‌های بسیار واکنش‌پذیر اکسیژن (ROS) برای شروع پراکسیداسیون لیپید قرار گیرد (۱۰). پراکسیداسیون لیپید منجر به تولید آلدئیدهای سمی گردیده که یکی از سمی‌ترین آنها، مالون دی‌آلدئید[1] است (۱۱). این ماده به شدت با اختلالات عملکردی در سیستم اعصاب مرکزی همراه است (۱۱). شواهد متعددی نشان داده است که پس از القاء دیابت به تدریج اختلال عملکرد شناختی و شکل‌پذیری سیناپسی در شکنج دندانه‌ای هیپوکامپ ظاهر می‌شود (۱۲، ۱۳) و تغییرات و اختلالاتی را در حل مسئله، حافظه و یادگیری ایجاد می‌نماید (۱۴، ۱۵). از این رو به منظور برطرف کردن آسیب‌های اکسیداتیو، محققین از داروهای متعدد با خاصیت آنتی‌اکسیدان از جمله ویتامین E، ویتامین C و بتاکاروتن استفاده نموده‌اند (۱۶).

کودزو[2] متعلق به خانواده Fabaceae و سرشار از ترکیبات پلی-فنولیک است که شامل ایزوفلاون‌ها ،ایزوفلاون‌های گلیکوزیدی، کومارین‌ها، پوراروز و ۲ بوتیل اینولیدها می‌باشد. طبیعت کودزو سرد و مزه‌ای شیرین دارد و مورد مصرف آن در قطع اسهال و تقویت تولید مایعات بدن است (۱۷). بر اساس فارماکوپه جمهوری خلق چین گیاه خشک شده کودزو ضدتب، ضد اسهال خونی حاد، برطرف کننده تشنگی، پایین آورنده قند خون و فشار خون است. در مطالعات اخیر آب استخراج شده از گل‌های گیاه کودزو حاوی اثرات پایین آورنده قندخون، چربی (۱۸) و به عنوان یک آنتی‌اکسیدان محافظ سلول‌های کبد (۱۹)، ضد جنون، تأثیرات استروژنی و ضد سرطان (۲۰) معرفی شده است. مطالعات قبل و بعد از تشخیص بیماری دیابت نشان داده که کودزو اثرات بسیاری بر هومئوستاز گلوکز دارد (۲۱). در واقع کودزو بیان mRNA گیرنده انسولین را از طریق پروتئین کیناز در کشت‌های سلولی کبد انسان و ماهیچه اسکلتی افزایش می‌دهد (۲۲). با توجه به مکانیسم‌های آسیبی که در دیابت به دنبال افزایش رادیکال‌های آزاد در حافظه و یادگیری ایجاد می‌شود و اثرات آنتی‌اکسیدانی ریشه کودزو، در مطالعه حاضر بر آن شدیم اثرات ریشه کودزو را بر اختلالات حافظه و یادگیری ناشی از دیابت را بررسی نماییم.

مواد و روش‌ها

موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۴۰g-۲۲۰ از بخش حیوانات انستیتو پاستورآمل تهیه و در شرایط کنترل شده از نظر نور (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) و دمای محیط ۲۴-۲۰ °C و رطوبت نسبی ۶۰-۴۰ درصد در اتاق حیوانات مرکز آموزش عالی علمی کاربردی

[1]Malondialdehyde

[2]Puerariae Radix

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:45 IRST on Saturday November 18th 2017

رسول اکرم(ص) دامغان نگهداری شدند تا با محیط جدید سازگار شوند.

این شرایط طی آزمایش نیز حفظ گردید. در طول مطالعه جهت تغذیه موش‌ها از غذای مخصوص موش (غذای فشرده) و آب آشامیدنی شهری استفاده گردید و حیوانات به طور آزادانه به آب و غذای کافی دسترسی داشتند. موش‌ها بطور تصادفی به ۳ گروه ۸ تایی کنترل، دیابتی و دیابتی تیمار شده با ریشه کودزو (۵۰mg/kg) تقسیم شدند.

داروهای بکار رفته در این آزمایش شامل ریشه کودزو (SC-۲۰۵۷۸۸) و استرپتوزوتوسین (S0۱۳۰) بودند، که ریشه کودزو از شرکت سانتا کروز بیوتکنولوژی آمریکا و استرپتوزوتوسین (STZ)، کتامین (k113) و زایلزین (x1251) از شرکت سیگما خریداری شد. القای دیابت با تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین (۵۵mg/kg) حل شده در بافر سیترات (۰/۰۵ مولار با pH= ۴/۵) انجام گردید. جهت حصول اطمینان از دیابتی شدن موش‌ها ۷۲ ساعت بعد از تزریق STZ، سنجش قند خون با استفاده از خون سیاهرگ دمی و به کمک دستگاه کلوگوکارد صفر و یک (Glucoard 01) انجام شد (۳۵) و موش‌های صحرایی دارای قند خون بالاتر از ۳۰۰mg/dl به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند. موش‌ها در گروه کنترل تحت هیچ تیماری قرار نگرفتند. گروه سوم یک هفته پس از القای دیابت، داروی کودزو را روزانه متناسب با وزن هر موش با دوز ۵۰mg/kg حل شده در آب مقطر بصورت دهانی (گاواژ) دریافت نمودند. با نمونه‌گیری از سیاهرگ دمی میزان قند خون در هفته‌های ۱، ۳، ۵ و ۷ پس از تزریق استرپتوزوتوسین مورد سنجش قرار گرفت.

در پایان هفته ششم جهت سنجش رفتار شناخت فضایی از دستگاه Y maze استفاده شد. Y maze دارای سه بازوی یکسان است. ابعاد هر بازوی ماز، ۱۵×۳۰×۵۰ cm است. جهت انجام آزمون، موش‌های صحرایی به نوبت از انتهای یک بازوی Y maze وارد شدند و اجازه داده شد تا برای ۸ دقیقه بین بازوها رفت‌وآمد کنند. در تمام این مدت از حرکت جانور، فیلمبرداری شد. پس از فیلمبرداری، تعداد دفعات حرکت در بازوها و تعداد دفعات ایستادن روی دو پای عقب موش‌ها، در بازوی جدید و مدت زمان تأخیر در انتخاب بازوی جدید، ارزیابی شد. همچنین در طی آزمون، شرایط دیداری محیط آزمون ثابت نگه داشته شد. این آزمون یک هفته بعد مجدداً تکرار شد. با این تفاوت که فاصله بین مرحله فراگیری و بازیابی به جای ۳۰ دقیقه، ۵ دقیقه در نظر گرفته شد. سه متغیر حرکت به سمت بازوی جدید، تعداد ایستادن در بازوی جدید و مدت زمان تأخیر متغیرهای شناخت فضایی در نظر گرفته شدند.

جهت انجام آزمون شناسایی اشیا (۱۰) از پایان هفته ششم هر یک از موش‌های صحرایی روزانه به مدت ۱۵ دقیقه و برای یک هفته، در جعبه سفید رنگ چوبی به ابعاد cm ۱۶×۴۰×۴۰ برای جستجو و آشنایی با محیط قرار داده شدند. پس از گذشت یک هفته، دو شیء یکسان (از وسیله‌ای که تنوع رنگ داشت) در جعبه قرار داده شد و هر یک از موش‌های صحرایی برای مدت ۱۰ دقیقه در جعبه مستقر شدند.

بعد از گذشت ۳۰ دقیقه یکی از شیءها با شیء جدیدی تعویض شد و مجدداً هر یک از موش‌های صحرایی برای مدت ۵ دقیقه در جعبه قرار گرفتند. تمام این مدت با دوربین فیلمبرداری شد. در بررسی فیلم‌ها، مدت زمان تأخیر در انتخاب شیء جدید و تعداد دفعات بررسی شیء جدید توسط حیوان، ارزیابی شد. لازم به ذکر است که طی آزمون، منظور از شناسایی شیء، تماس بینی جانور با شیء یا اشاره بینی به شیء می‌باشد.

آزمون جعبه باز جهت سنجش رفتار جستجوگرانه و ارزیابی فعالیت‌های حرکتی استفاده می‌شود. البته از این آزمون برای سنجش میزان اضطراب نیز می‌توان استفاده کرد. هر چه موش بیشتر دچار اضطراب باشد، بیشتر در خانه‌های حاشیه به سر می‌برد و کمتر در خانه‌های مرکزی حرکت می‌نماید. برای این

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:45 IRST on Saturday November 18th 2017

منظور از یک جعبه سفید به ابعاد ۳۰ cm×۶۰×۶۰ استفاده شد. در شروع آزمایش، حیوان در خانه حاشیه قرار گرفته و طی ۵ دقیقه رفتارها و حرکات جانور مورد بررسی قرار گرفت. در بررسی این آزمون، تعداد حرکت در تمام مربع‌ها، تعداد حرکت در مربع‌های صفر و یک و دو بطور جداگانه و نیز تعداد ایستادن حیوان روی دو پای عقب و تعداد دفعات تمیز کردن خود (شامل تمیز کردن صورت، لیس زدن و خاراندن بدن) مورد ارزیابی قرار گرفت. آزمون در محیطی کاملاً آرام با درجه حرارت ثابت و روشنایی یکنواخت انجام گرفت. زمان انجام این آزمون پس از پایان هفته ششم پس از تزریق استرپتوزوتوسین بود.

آزمون بارفیکس برای ارزیابی عملکرد حرکتی، قدرت عضلات و میزان مقاومت حیوان در برابر سقوط استفاده می‌شود. برای انجام این آزمایش از میله فلزی محکم، به طول ۴۵cm و با قطری مناسب در حدود ۰/۶cm استفاده شد، بطوریکه در حالت عادی موش توانایی گرفتن میله را داشت. این میله از دو طرف، توسط گیره به پایه‌ها متصل شد. ارتفاع میله از سطح نباید کمتر از ۴۵cm باشد. در غیر این صورت موش‌ها تمایلی به گرفتن میله نخواهند داشت و به راحتی خود را رها می‌کنند. در این آزمون موش را از طریق دو پنجه پای جلو از میله آویزان کرده و زمان سقوط ثبت می‌شود. حداکثر زمان آزمون برای هر موش ۶۰ ثانیه است. زمان ثبت شده شامل مدتی است که حیوان با پنجه دست‌های جلوی خود، میله را می‌گیرد. قبل از ثبت نتایج چند بار حیوان از پنجه دست‌های جلوی خود بر روی میله قرار گرفت تا با گرفتن میله و محیط آزمون آشنا شود (۱۰).

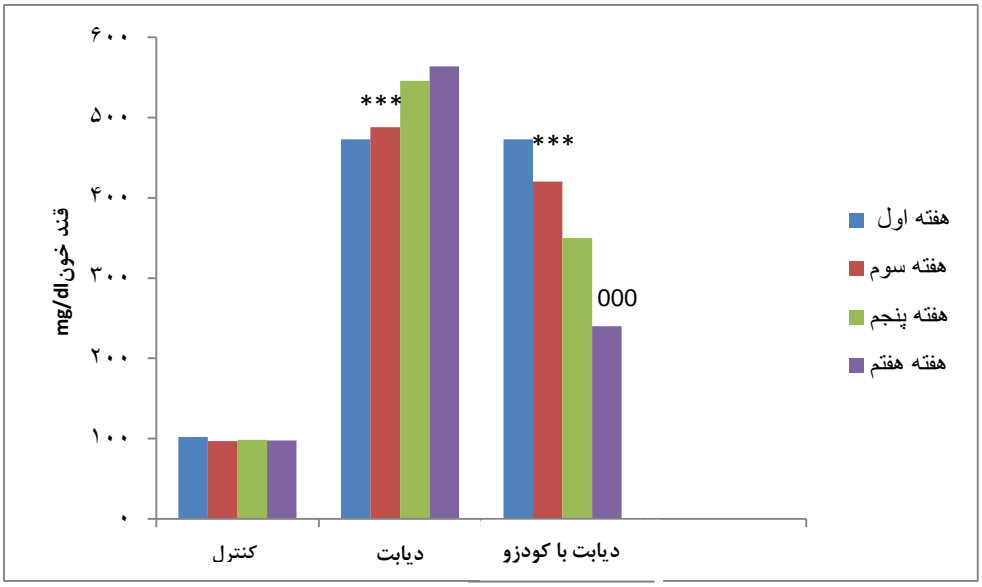
آزمون سطح شیبدار نیز برای ارزیابی عملکرد حرکتی استفاده می‌شود و شامل توانایی حیوان در حفظ وزن بدن خود بر روی یک سطح شیبدار است. ابزار مورد استفاده در این آزمون شامل یک صفحه با اندازه ۶۰cm × ۴۰ است که دارای دیواره‌های ۱۰ سانتیمتری در سه جهت می‌باشد، این دیواره در سمتی که شیب صفحه به طرف پایین قرار دارد، وجود ندارد. در یک سمت این صفحه نقاله‌ای برای اندازه‌گیری زاویه صفحه با سطح افقی (زمین) قرار دارد. این صفحه بر روی یک پایه بالاتر از سطح زمین قرار گرفته و سطح صفحه با یک پوشش پلاستیکی شیاردار پوشانده می‌شود. هر موش بر روی صفحه قرار می‌گیرد و جهت کاهش حرکت و جابجایی موش در شروع آزمون شیب صفحه به میزان °۳۰ تنظیم می‌شود. پس از آن میزان زاویه صفحه به تدریج (°۵-۲ در ثانیه) افزایش می‌یابد، تا جاییکه حیوان قادر به حفظ وضعیت خود بر روی صفحه نباشد و سر بخورد. زاویه مشاهده شده در این حالت به عنوان حداکثر زاویه برای حیوان ثبت می‌شود. قبل از ثبت نتایج، به منظور آشنایی با نحوه آزمون و محیط، حیوان چند بار بر روی سطح شیبدار قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با نرم‌افزار PRISM-5.0 و آزمون‌های One way ANOVA و Tukey انجام شد. سطح معنی‌داری $P<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

اندازه‌گیری وزن گروه‌ها هر دو هفته یک بار نشان داد که گروه دیابتی از هفته سوم به بعد (۱۷۵/۶±۱۰/۴۵) کاهش وزن معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت ($P<۰/۰۰۱$). گروه دیابتی تیمار با کودزو از هفته پنجم به بعد، (۲۷۴±۱/۱۰۷) افزایش وزن معنی‌داری نسبت به گروه دیابتی داشت ($P<۰/۰۱$). همچنین ارزیابی میزان قند خون گروه‌ها هر دو هفته یک بار، نشان داد که گروه دیابتی تیمار با دارو از هفته سوم به بعد، (۷۷/۸۶±۴/۶۴۳) کاهش معنی‌داری نسبت به گروه دیابتی داشت ($P<۰/۰۱$) و گروه دیابتی در تمام هفته‌ها (۵۴۵/۸±۱۸/۴۷) افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشت ($P<۰/۰۰۱$) (نمودار ۱).

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:45 IRST on Saturday November 18th 2017



نمودار ۱- مقایسه قند خون در هفته اول، سوم، پنجم و هفتم بین گروه‌های مورد آزمایش

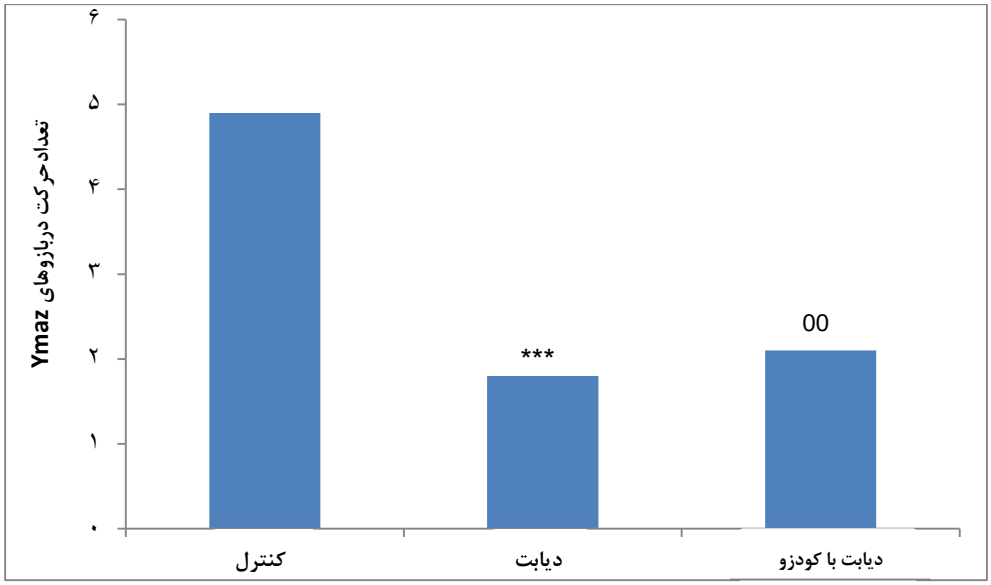
*** تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل $P<۰/۰۰۱$

000 تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی $P<۰/۰۰۱$

نتایج آزمون Ymaze مقایسه تعداد حرکت در بازوها در پایان هفته ششم بین گروه‌های کنترل و تجربی نشان داد که در گروه دیابتی تیمار شده با ریشه کودزو (۴/۰۰۰±۰/۱۶۷) افزایش معنی‌داری ($P<۰/۰۱$) نسبت به گروه دیابتی مشاهده شد و گروه دیابتی (۱/۶۲۵±۰/۱۵۹) نیز کاهش معنی‌داری ($P<۰/۰۰۱$) نسبت به گروه کنترل (۴/۸۷۵±۰/۱۸۶) داشت (نمودار۲) .

بر اساس نتایج آزمون شناسایی موضوع، افزایش معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) در تعداد دفعات بررسی شیء جدید در گروه دیابتی تیمار شده با ریشه کودزو (۰/۵۰۰±۰/۶۱۸۹) نسبت به گروه دیابتی مشاهده شد و گروه دیابتی (۰/۵۰۰±۰/۱۷۸۶) نیز کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل (۲/۸۷۵±۰/۷۷۸۹) داشت (نمودار۳).

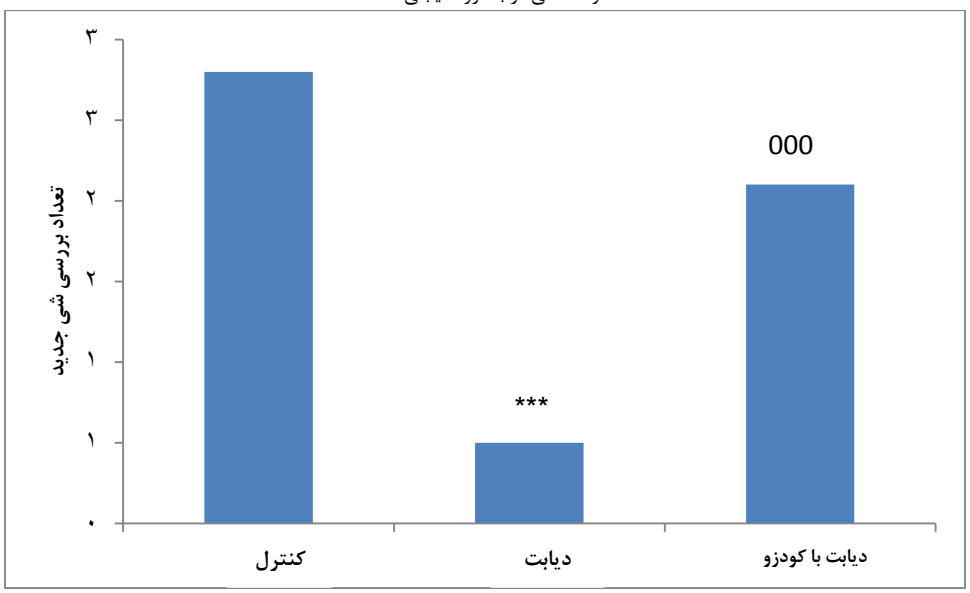
Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:45 IRST on Saturday November 18th 2017



نمودار ۲- تعداد حرکت در تمام بازوهای Ymaze بین گروه‌های مورد آزمایش

*** تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل $P<۰/۰۰۱$

°° تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی $P<۰/۰۱$



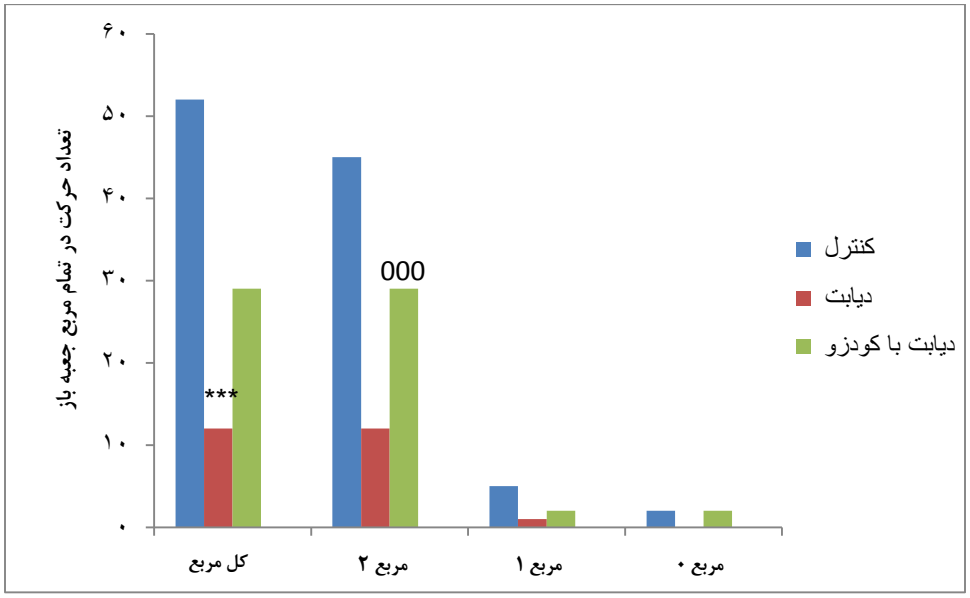
نمودار۳- تعداد دفعات بررسی شیء جدید بین گروه‌های مورد آزمایش

*** تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل $P<۰/۰۱$

°°° تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی $P<۰/۰۱$

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:45 IRST on Saturday November 18th 2017

نتایج آزمون جعبه باز، مقایسه تعداد حرکت در تمام مربع‌های جعبه باز، همچنین مربع های ۲ و۱ و ۰ بین گروه‌های کنترل و تجربی نشان داد که در گروه دیابتی تیمار شده با ریشه کودزو افزایش معنی‌داری ($P<۰/۰۱$) در تعداد حرکت در تمام مربع‌ها و نیز مربع‌های ۲ نسبت به گروه دیابتی مشاهده شد و گروه دیابتی نیز در تعداد حرکت در تمام مربع‌ها و نیز مربع-های ۲، کاهش معنی‌داری ($P<۰/۰۱$) نسبت به گروه کنترل نشان داد (جدول۱) (نمودار۴). مقایسه مدت زمان بارفیکس، بین گروه‌های کنترل و تجربی مشخص نمود که گروه دیابتی تیمار شده با ریشه کودزو (۱۸/۳۷۵±۱/۸۷۷) افزایش معنی-داری ($P<۰/۰۰۱$) نسبت به گروه دیابتی (۵/۰۰±۰/۶۴۵۵) داشت و نیز در گروه دیابتی کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل (۱۷/۸۷±۱/۶۵۴) مشاهده شد (نمودار ۵). مقایسه درجه سطح شیبدار بین گروه‌های کنترل و تجربی نشان داد که مقدار درجه سطح شیبدار در گروه دیابتی تیمار شده با ریشه کودزو (۶۳/۲۵۰±۱/۴۵۵) افزایش معنی‌داری ($P<۰/۰۰۱$) نسبت به گروه دیابتی و افزایش معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) نسبت به گروه کنترل (۶۰/۶۲۵±۱/۶۵۵) داشت و نیز در گروه دیابتی (۴۳/۷۵۰±۲/۹۸۸) کاهش معنی‌داری ($P<۰/۰۰۱$) نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (نمودار ۶).

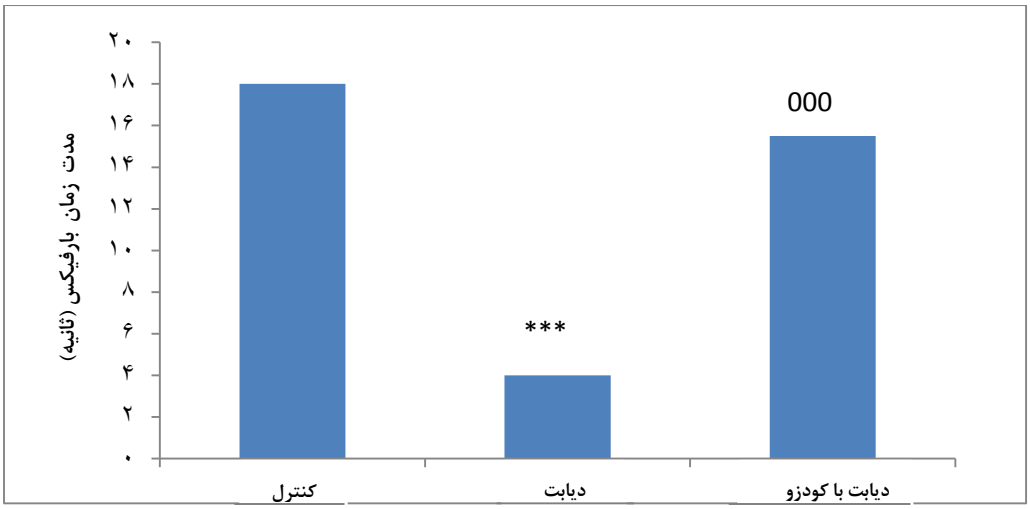


نمودار ۴- تعداد حرکت در تمام مربع‌های جعبه باز، همچنین مربع‌های ۲ و ۱ و ۰، بین گروه‌های مورد آزمایش

*** تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل $P<۰/۰۱$

000 تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی $P<۰/۰۱$

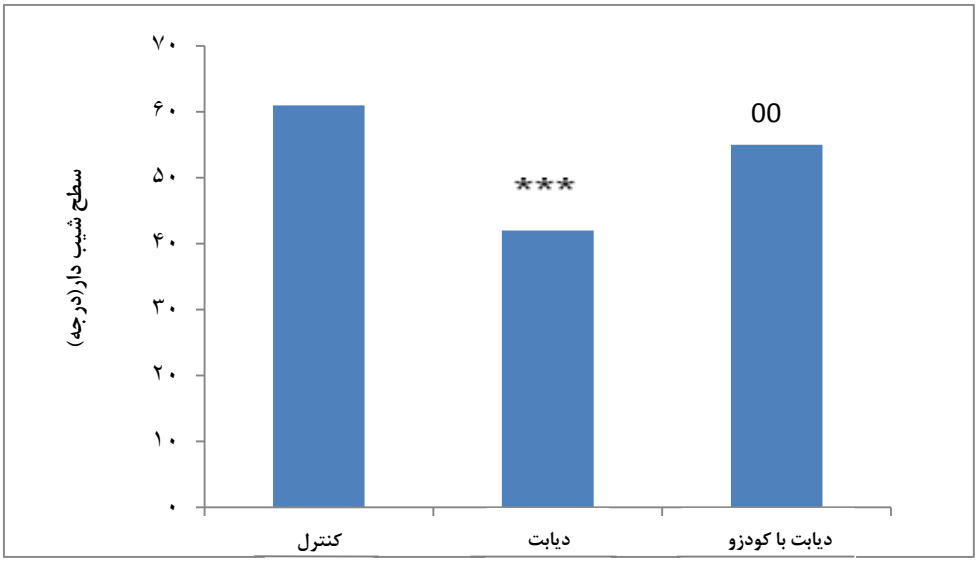
Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:45 IRST on Saturday November 18th 2017



نمودار ۵- مدت زمان بارفیکس، بین گروه‌های مورد آزمایش

*** تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل $P<۰/۰۰۱$

°°° تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی $P<۰/۰۰۱$



نمودار ۶- درجه سطح شیبدار بین گروه‌های مورد آزمایش

*** تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل $P<۰/۰۰۱$

°° تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی $P<۰/۰۵$

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:45 IRST on Saturday November 18th 2017

جدول۱- مقایسه (میانگین±خطای معیار) تعداد حرکت در تمام مربع‌ها و مربع‌های ۲، ۱ و ۰ و تعداد دفعات تمیز کردن خود و تعداد ایستادن روی دوپا در جعبه باز، بین گروه‌های مورد آزمایش

متغیرها	گروه کنترل	گروه دیابت	گروه دیابت تیمار با کودزو
تعداد حرکت در تمام مربع‌ها	۵۲/۰۰۰±۱۰/۵۴۵	❋۱۱/۰۰۰±۷/۷۸۵	°۲۷/۷۵۰±۱۱/۹۸۷
تعداد حرکت در مربع‌های ۲	۴۷/۶۲۵±۰/۸۳۲	۱۱/۲۵۰±۰/۶۵۴	۲۵/۲۵۰±۰/۹۶۶
تعداد حرکت در مربع‌های ۱	۴/۱۲۵±۱/۵۴۵	۰/۸۷۵±۱/۸۹۲	۱/۷۵۰±۱/۷۶۵
تعداد حرکت در مربع‌های ۰	۱/۱۲۵±۰/۶۲۳۵	۰/۲۵۰±۰/۴۵۳۳	۰/۵۵۰±۰/۵۵۴۳

❋❋ کاهش معنی‌داری (درسطح $P<۰/۰۱$) نسبت به گروه کنترل

° کاهش معنی‌داری (درسطح $P<۰/۰۱$) نسبت به گروه کنترل

بحث

در این مطالعه نشان داده شد که تجویز ریشه کودزو در موش-های صحرایی نر دیابتی، به مدت شش هفته، علاوه بر کاهش قند خون بطور معنی‌داری سبب افزایش عملکرد شناخت فضایی، عملکرد حرکتی و نیز افزایش توانایی حیوان در شناسایی اشیاء گردید. در واقع افزایش تعداد حرکت در تمام بازوهای Y maze و افزایش توانایی شناخت شیء، افزایش جستجو در جعبه باز و افزایش عملکرد حرکتی در آزمون‌های بارفیکس و سطح شیبدار نشان دهنده تأثیر ریشه کودزو در پیشگیری از ایجاد اختلالات شناختی و حرکتی در گروه دیابتی شده با استرپتوزوتوسین می‌باشد.

در مطالعه Perry نشان داده شد که، تجویز کودزو به رت‌های دیابتی، مانع از تخریب سلول‌های بتا و همینطور پانکراس در مقابل استرس اکسیداتیو می‌باشد (۲۳).

کودزو ممکن است سبب کاهش جذب گلوکز روده‌ای شود و انتقال گلوکز از خلال اپی‌تلیوم روده‌ای نیز کاهش می یا بد (۱۶). این دو رویداد ممکن است سبب کنترل گلوکز خون شوند. کودزو حساسیت به انسولین و ترشح انسولین را افزایش می‌دهد و باعث بازسازی در سلول‌های β می‌شود. فعالیت آنتی‌اکسیدان را افزایش داده و به علاوه فعالیت سوپراکسید دیسموتاز پانکراس را به مقدار نزدیک به حد نرمال بازمی‌گرداند (۲۱).

در بیماری دیابت تولید و رهاسازی برخی از ناقلین عصبی از جمله استیل کولین کاهش می‌یابد (۲۴). کاهش استیل کولین از جمله عوامل مهم در آسیب‌شناسی بیماری آلزایمر و اختلالات حافظه و یادگیری است. مطالعات نشان داده است که پورارین توانایی دارد فعالیت آنزیم‌های استیل کولین استراز و بوتیریل کولین استراز را کاهش دهد و با توجه به این که مهار آنزیم‌های استیل کولین استراز و بوتیریل کولین استراز باعث افزایش سطح استیل کولین در مغز و بهبود اختلالات حافظه‌ای می‌شود، به این ترتیب ریشه کودزو می‌تواند با مهار این آنزیم‌ها و افزایش سطح استیل کولین باعث بهبود اختلالات شناختی در بیماران دیابتی شود.

در مطالعه انجام شده، در گروه دیابتی تحت درمان با ریشه کودزو، سطح حافظه و یادگیری تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل دا شت. همچنین تحقیقات اخیر ن شان داده ا ست که ریشه کودزو در حضور فاکتور رشد عصبی (NGF) رشد فیبرهای عصبی را افزایش داده و سبب افزایش توان تمایز در سلول‌های ع صبی می شود (۲۵) که خود می‌تواند به عنوان یکی از مکانیسم‌های حفاظت‌گر نورونی ریشه کودزو مورد ارزیابی قرار گیرد.

مطالعات، نشان دهنده متابولیسم ناقص پراکسید لیپید در بافت‌های مختلف حیوانات دیابتی است. هیدروپراکسیداز و ماده وا کنش گر Thiobarbituric acid (نشانگرهای پراکسیداسیون لیپید) میزان زیاد پراکسیداسیون لیپید را در

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:45 IRST on Saturday November 18th 2017

بافت‌های دیابتی نشان می‌دهند. لازم به ذکر است که بافت مغز نسبتاً محتوی مقدار زیادی از اسیدهای چرب به آسانی قابل پراکسیداسیون است. با توجه به اینکه پورارین کودزو، فعالیت آنزیم گلوکز ۶ فسفاتاز را کاهش می‌دهد، بنابراین لیپوژنز و در نتیجه پراکسیداسیون لیپید و سرانجام استرس اکسیداتیو را کاهش داده و از آسیب بافت عصبی پیشگیری می‌کند. به این ترتیب ریشه کودزو با اثر مستقیم بر سلول های بتای پانکراس و نیز اثر بر آنزیم های مؤثر در هموستاز گلوکز باعث کاهش قند خون و کنترل پراکسیداسیون لیپید شده و از سوی دیگر کاهش قند خون منجر به حذف مسیرهای متابولیک جایگزین برداشت گلوکز و عوارض ناشی از آنها نظیر تولید ROS و ایجاد استرس اکسیداتیو می‌گردد (۲۱). بنابراین بخشی از آثار ریشه کودزو در پیشگیری از اختلالات مرتبط با شناخت فضایی، شناسایی محیط، شناخت شیء و اختلالات حرکتی را می‌توان به نقش این دارو در کاهش قند خون نمونه‌های دیابتی نسبت داد. این موارد با پژوهشی که انجام شد همخوانی دارد.

یکی از عوامل مهم در بیماری‌زایی نوروپاتی دیابتی، استرس اکسیداتیو است. نواحی معینی از مغز غنی از آهن است، این فلز که در شکل آزاد، تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن را تسهیل می‌نماید. آسیب‌پذیری مغز به وسیله استرس اکسیداتیو به وسیله رادیکال‌های آزاد اکسیژن ایجاد می‌شود. همچنین افزایش استرس اکسیداتیو در داخل سلول منجر به فعال‌سازی مسیر (آدنوزین دی فسفات- ریبوز) پلی مراز (PARP) می‌شود که بیان ژن های دخیل در پیشرفت واکنش‌های التهابی و اختلال عصبی را تنظیم می‌کند (۲۶). از جمله محققین نشان داده‌اند که ریشه کودزو، در سلول‌های اپی تلیال توبول‌های کلیوی، تولید پراکسی نیتریت را مهار نموده و سلول‌ها را از آسیب ناشی از آن محافظت می‌نماید (۲۵). پراکسی نیتریت که از واکنش بین NO و O^{2-} حاصل می‌شود منجر به اکسیده شدن اجزاء سلولی شامل پروتئین ها، لیپیدها و کربوهیدرات و DNA می‌شود و در نتیجه منجر به تحریک پاسخ‌های التهابی و تجمع مضاعف آمیلوئید بتا پپتید می‌شود. با توجه به اینکه هیچ نوع آنزیم آنتی‌اکسیدان داخلی قادر به پاک‌سازی آن نیست، نقش ریشه کودزو در این زمینه بسیار حائز اهمیت می‌باشد. همچنین ریشه کودزو، مقادیر سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز را بطور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌دهد و پراکسیداسیون لیپید را کاهش می‌دهد. بدین ترتیب، ریشه کودزو قادر است آزادسازی رادیکال های آزاد را کاهش دهد (۲۷). در مجموع می‌توان بخش عمده‌ای از آثار محافظت نورونی این دارو در مقابل اختلالات شناختی (نمودارهای ۴، ۶ و۷) و حرکتی (جدول ۱و نمودار ۳ و۵) ناشی از دیابت را به آثار آنتی‌اکسیدان آن منتسب نمود.

نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد مصرف مکمل کودزو با اثر کاهش قند خون و عوارض استرس اکسیداتیو به عنوان یک عامل ایجاد کننده تعادل اکسیدان و آنتی‌اکسیدان، در آینده نقش درمانی مهمی در کاهش گلوکز و افزایش میزان انسولین سرم خون و آثار محافظت نورونی در مقابل اختلالات شناختی و حرکتی ناشی از دیابت را می‌تواند ایفا نماید.

References

1. Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB 3rd. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. J Biochem Mol Toxicol 2003; 17(1):24-38.

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:45 IRST on Saturday November 18th 2017

2. Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes mellitus: complications and therapeutics. Med Sci Monit 2006; 12(7):RA130-47.
3. Dizdaroglu M. Chemistry of free radical damage to DNA and nucleoproteins. In: Halliwell B, Aruoma O, editors. DNA and Free Radicals. UK: Ellis Horwood; 1993. p. 19-39.
4. Ahmed RG. The physiological and biochemical effects of diabetes on the balance between oxidative stress and antioxidant defense system. Med J Islamic World Acad Sci 2005; 15:31-42.
5. Aitken RJ, Clarkson JS, Fishel S. Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation, and human sperm function. Biol Reprod 1989; 41(1):183-97.
6. Baynes JW. Role of oxidative stress in development of complications of diabetes. Diabetes 1991; 40(4):405-12.
7. Wändell 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(2):68-74.
8. Baccetti B, La Marca A, Piomboni P, Capitani S, Bruni E, Petraglia F, *et al*. Insulin-dependent diabetes in men is associated with hypothalamo-pituitary derangement and with impairment in semen quality. Hum Reprod 2002; 17(10):2673-7.
9. Balasubramanian K, Sivashanmugam P, Thameemdheen S, Govindarajulu P. Effect of diabetes mellitus on epididymal enzymes of adult rats. Indian J Exp Biol 1991; 29(10):907-9.
10. Labrousse VF, Costes L, Aubert A, Darnaudéry M, Ferreira G, Amédée T, *et al*. Impaired Interleukin-1b and c-Fos Expression in the hippocampus Is Associated with a Spatial Memory Deficit in P2X7 Receptor-Deficient Mice. PloS One 2009; 4(6):e6006.
11. Hong JH, Kim MJ, Prak MR, Kwag OG, Lee IS, Byun BH, *et al*. Effects of vitamin E on oxidative stress and membrane fluidity in brain of streptozotocin-induced diabetic rats. Clin Chim Acta 2004; 340(1-2):107-15.
12. Kamal A, Biessels G, Gispen WH, Ramakers MJ. Synaptic transmission changes in the pyramidal cells of the hippocampus in streptozotocin-induced diabetes mellitus in rats. Brain Res 2006; 1073-1074:276-80.
13. Kamal A, Biesssls GJ, Duis SE, Gispen WH. Learning and hippocampal synaptic plasticity in streptozotocin-diabetic rats: interaction of diabetes and ageing. Diabetologia 2000; 43(4):500-6.
14. Reisi P, Babri S, Alaei H, Sharifi MR, Mohaddes G, Noorbakhsh SM. Treadmill running improves long-term potentiation (LTP) defects in streptozotocin-induced diabetes at dentate gyrus in rats. Pathophysiology 2010; 17(1):33-8.
15. Northam EA, Rankins D, Lin A, Wellard RM, Pell GS, Finch SJ, *et al*. Central nervous system function in youth with type 1 diabetes 12 years after disease onset. Diabetes Care 2009; 32(3):445-50.
16. Yuan L, Tu D, Ye X, Wu J. Hypoglycemic and hypocholesterolemic effects of Coptis chinensis franch inflorescence. Plant Foods Hum Nutr 2006; 61(3):139-44.
17. Turnbull I, Vegetation O, Bellingen Sh. Kudzu: Pueraria lobata Identification and Control. 2004 March Flora of NSW Vol 2, p 586.
18. Xu ME, Xiao SZ, Sun YH, Zheng XX, Ou-Yang Y, Guan C. The study of anti-metabolic syndrome effect of puerarin in vitro. Life Sci 2005; 77(25):3183-96.
19. Cheng Z, Pang T, Gu M, Gao AH, Xie CM, Li JY, *et al*. Berberine-stimulated glucose uptake in L6 myotubes involves both AMPK and p38 MAPK. Biochim Biophys Acta 2006; 1760(11):1682-9.
20. Perry LM. Medicinal Plants of East and Southeast Asia: Attributed Properties and Uses. Massachusetts and London: The MIT Press; 1980, 225.
21. Sun YX, Li JQ. The vasodilation effect of puerarin and underlying mechanism. Chinese Traditional and Herbal Drugs 2002; 33:733-4. [Chinese]
22. Zhang H, Wei J, Xue R, Wu JD, Zhao W, Wang ZZ ,*et al*, Kudzu lowers blood glucose in type 2 diabetes mellitus patients through increasing insulin receptor expression. Metabolism 2010; 59(2):285-92.
23. Shibata S, Murakami T, Nishikawa Y, Harada M. The constituents of Pueraria root. Chem Pharm Bull 1959; 7:134-6.
24. Bishop GM, Dringen R, Robinson SR. Zinc stimulates the production of toxic reactive oxygen species (ROS) and inhibits glutathione reductase in astrocytes. Free Radic Biol Med 2007; 42(8):1222-30.
25. Dong LP, Wang TY. Effects of puerarin against glutamate excitotoxicity on cultured mouse cerebral cortical neurons. Zhongguo Yao Li Xue Bao 1998; 19(4):339-42.

26. Nakamoto H, Miyamura S, Indad K., Nakamura N. [The study of the aqueous extract of Puerariae radix. I. The preparation and the components of the active extract (author's transl)]. Yakugaku Zasshi 1975; 95(9):1123-7. [Japanese]
27. Xu X, Zheng X. Potential involvement of calcium and nitric oxide in protective effects of puerarin on oxygen-glucose deprivation in cultured hippocampal neurons. J Ethnooharmacology 2007; 113(3):421-6.

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:45 IRST on Saturday November 18th 2017

Downloaded from journal.nums.ac.ir at 11:45 IRST on Saturday November 18th 2017

Effect of Kudzu Root on Memory and Learning Disorders in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Mahboobeh Mahboobi[1], Pirasteh Norouzi[2], Mahdi khaksari[*3], Hamid Kalalian Moghaddam[3]

1- MSc of Physiology, Education of Gonbad, Golestan, Iran
2- MSc of Physiology, Physiology department, School of Medicine, Shahrood University of Medical Sciences, Shahrood, Iran
3- Assistant Professor, Physiology department, School of Medicine, Shahrood University of Medical Sciences, Shahrood, Iran

Received: May 4, 2016 Accepted: Mar 12, 2017

Abstract

Introduction

Recent research has shown that diabetes leads to movement disorders and cognitive impairment in learning. Kudzu root is an isoflavone and saponin which has often been used as an antihyperglycemic agent. Kudzu has the ability to decrease a glucose level which is insulin independent and similar to the metformin. Also it can reduce oxidative stress by scavenging of free radicals. The present study has been conducted to evaluate of the effect of Kudzu root on learning¸ spatial cognition and mobility in diabetic rats.

Materials and Methods

In this experimental study¸24 male Wistar rats were divided into following groups: control¸ diabetic and Kudzu-treated diabetic groups. Diabetes was induced by intra-peritoneal injection of streptozotocin (STZ) (dose 50mg/kg). One week after STZ injection¸ Kudzu was gavaged at the dose of 50 mg/kg for six weeks. Behavioral tests including spatial recognition¸ object recognition and the grip traction motor tests were performed.

Results

In spatial recognition test¸ the number of locomotion and learning arms of the Y maze in the Kudzu root-treated group increased significantly in comparison with diabetic group. In objects recognition test¸ the number of recognition novel object in Kudzu root-treated diabetic group was significantly more than diabetic group.

Conclusion

Kudzu root treatment for diabetic rats within 6 weeks can improve movement disorders and cognitive dysfunction in memory and learning.

Keywords

Diabetes Mellitus, Diabetes Mellitus, Kudzu Root, Memory, Learning

***Corresponding Author:** Mahdi khaksari, Physiology department, School of Medicine, Shahrood University of Medical Sciences, Shahrood, Iran
Email: Khaksari417@yahoo.com
Tel: 023-32395054

► **Please cite this article as:**

Mahboobi M, Norouzi P, khaksari M, Kalalian Moghaddam H. Effect of Kudzu Root on Memory and Learning Disorders in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. J Neyshabur Univ Med Sci 2016; 4(4):69-81.