اثر عصاره هایپریکوم بر یادگیری شرطی اجتنابی غیرفعال در موش های صحرایی نر نژاد ویستار

پروین اسدی[۱] ، کامبیز روشنایی[۲] ، حمید رضا مهاجرانی *[۳]

چکیده

مقدمه و هدف : با افزایش سن، تولید روز افزون استرس اکسیداتیو موجب آسیب در فرایندهای مغزی، از جمله اعمال شناختی همچون یادگیری و حافظه ، می‌گردد، این مطالعه قصد داشت. اثر آن را بر یادگیری وحافظه اجتنابی غیر فعال در موش‌های صحرائی نربالغ مورد بررسی قرار دهد.

روش‌ها: تعداد ۱۶ سر موش صحرایی نر بالغ با وزن تقریبی ۳۰۰ - ۲۵۰ گرم در دو گروه شاهدو گروه دریافت کننده عصاره هایپریکوم(دوز ۳۵۰mg/kg/day) تقسیم بندی شدند. هردو گروه بدون هیچ محدودیتی به ظرف آب دسترسی داشتند. عصاره هایپریکوم روزانه به مدت ۱ هفته به صورت خوراکی به موش‌های صحرائی نربالغ خورانده شد. آزمون یادگیری اجتنابی غیر فعال در دستگاه شاتل باکس و پس از انجام تیمارهای مورد نظر برای همه گروه‌ها، با شرایط یکسان انجام شد. در این آزمون، افزایش تأخیر زمانی برای اولین ورود به اتاق تاریک و مدت زمان اقامت در اتاق تاریک بیان گر بهبود یادگیری اجتنابی غیر فعال بود داده‌ها توسط نرم افزارSPSS و روش آماری ANOVA مورد تجریه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: در مقایسه با گروه شاهد و کنترل، شاخص‌های یادگیری اجتنابی غیر فعال در گروه های آزمایش افزایش معنی داری یافته بود.به این معنا که میانگین تاخیر در ورود به محوطه تاریک در گروه عصاره هایپریکوم برابر با ۲۶۰ ثانیه بود که در مقایسه با گروه کنترل به تنهایی (۲۴۰ ثانیه) افزایش معنا داری داشت ($P<0/001$).

نتیجه گیری: این نتایج نشان می‌دهد عصاره هایپریکوم سبب بهبود یادگیری اجتنابی غیر فعال در موش‌های صحرائی نر بالغ نژاد ویستار می‌شود .

واژه های کلیدی: عصاره هایپریکوم، یادگیری اجتنابی غیر فعال ، حافظه ، موش صحرایی ، شاتل باکس

---

۱ دانشجوی کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی ،واحد قم ،قم ، ایران

[۲] استادیار گروه زیست شناسی.دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم

* ۳استادیار گروه میکروبیولوژی.دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک Email:mohajeranihr@gmail.com

مقدمه

گیاه هایپریکوم ،علف چای، هزار چشم یا گل راعی با نام علمی Hypericum Perforatum L و اسامی انگلیسی Goat Weed ،St. John̓s Wort (SJW) , یک گیاه دارویی ارزشمند از خانواده علف چای (Hypericaceae یا Clusiaceae) می باشد.گیاهی علفی و پایا است (۱) و اکنون حدود 400 گونه در جهان دارد .قسمت مورد استفاده این گیاه سرشاخه های گلدار گیاه تازه یا خشک و نیز گل های تازه گیاه است. گل های گیاه دارای مقداری ماده هایپرسین می باشد و ساقه و برگ آن نیز دارای تانن است. همچنین دارای موادی چون کولین، ساپونین، روتین، گلیکوزید، پکتین و آلکالوئید ها می باشد .این گیاه دارای رنگدانه قرمز رنگی است به نام هیپرسین که حساسیت به نور ایجاد میکند .در طب سنتی علف چای به عنوان داروی ضد افسردگی، آرام بخش، مدر، ضد رماتیسم، ضد نقرس و ضد اسپاسم های مزمن گوارشی کاربرد داشته و همچنین در ضد عفونی و درمان زخم ها نیز استفاده می شده است(۳و۲)

اثرات آنابولیکی ضد التهابی، ضد باکتریایی، ضد ویروسی، پروتئین سازی، مهار کنندگی cAMP فسفو دی استرازی، تغییر نفوذپذیری مویرگ ها، ضد آریتمی، گشاد کنندگی عروق کرونر، تغییر قدرت و سرعت انقباض قلب توسط این گیاه، بیشتر به خاطر فلانوئیدهای موجود در گیاه است .هایپرسین دارای اثر مهار کنندگی بر آنزیم منو آمین اکسیداز(MAO) است و با مهار غیر قابل برگشت این آنزیم به عنوان یک داروی ضد افسردگی و ضد استرس عمل می کند.MAO آنزیمی است که از باز جذب

نوروترانسمیتر های سروتونین، دوپامین و نورآدرنالین جلوگیری می کند.(۵و۴)

یادگیری و حافظه یکی از عالی‌ترین سطوح عملکردی دستگاه عصبی مرکزی محسوب می‌شود. یادگیری یک پدیده عصبی است و یادگیری را می‌توان در معرض قرار گرفتن ارگانیسم، در مقابل اطلاعات مختلف دانست (۶). بر اساس تعریف دیگری می‌توان یادگیری را به عنوان توانایی تغییر رفتار بر پایه تجربه دانست (۷)

در مقایسه با گونه های دیگر یادگیری احترازی غیرفعال چند ویژگی خاص دارد که هنگام طرح ریزی و ارزیابی تجارب باید آنها را در نظر داشت.

رفتار فعال باید به خوبی شناخته شده، تکرارپذیر و به راحتی قابل اندازه گیری باشد.

محرک ناخوشایند باید به شکل واضح با مؤلفه رفتاری فعال در ارتباط باشد.

در وضعیت یادگیری شدیداً هیجانی(درد، ترس) اکتساب سریع به دست می آید و در بیشتر مواقع فقط یک بار تجربه اکتساب رخ می دهد.

اکتساب سریع، تشخیص زمان دقیق ورود اطلاعات به دستگاه اعصاب مرکزی را ممکن می سازد.

تثبیت حافظه(Retention) به وسیله یادگیری مجدد آزموده نمی شود، بلکه رفتار قبل و بعد از یادگیری با رفتار حیوان آموزش دیده و طبیعی با همدیگر مقایسه می شوند.

عصاره هایپریکوم موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و در نتیجه تخفیف دژنراسیون در برخی نواحی مغزی شامل قشر مغز و هیپوکامپ می گرد د. (۸).احتمال داده می شود که هیپرسین موجود در این گیاه با کاهش دادن جریانهای کلر فعال شده بر اثر ماده میانجی گابا موجب بهبود عملکرد حیوان در تستهای رفتاری مرتبط با حافظه و یادگیری می گردد(۹)

مواد و روش ها :

در این تحقیق که به صورت تجربی (مورد-شاهدی)اجرا گردید از موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد **ویستار** با وزن تقریبی ۳۰۰ - ۲۵۰ گرم استفاده شد. حیوانات مورد مطالعه از انستیتیو پاستور خریداری و در حیوان خانه دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم نگهداری شدند. تا مدت ۴۸ ساعت پس از استقرار حیوان در این محیط هیچ آزمایشی روی آن‌ها انجام نمی‌گرفت تا به شرایط جدید عادت پیدا کنند. تمامی آزمایشات با توجه به دستورالعملهای جهانی نگهداری حیوانات انجام گردید.

در مرحله عملی تحقیق، تعداد ۱۶ سر موش که وزن آن‌ها در محدوده ۳۰۰ – ۲۵۰ گرم بود در ۲ گروه به صورت تصادفی تقسیم بندی شده (n =۸)و به صورت زیر مورد آزمایش قرارگرفتند. در گروه کنترل موش ها بدون دریافت هایپریکوم تحت آزمایش یادگیری شرطی اجتنابی غیر فعال قرار گرفتند وگروه هایپریکوم به تنهایی موش ها به مدت یک هفته و از ۵ روز قبل از آشنایی به صورت خوراکی علف چای با دوز ۳۵۰mg\kg\day را دریافت کردند.

عصاره الکلی استاندارد هیپریکوم پرفوراتوم نیز از پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی تهران تهیه گردید.

عصاره هایپریکوم بصورت روزانه و محلول در آب به مقدار ۳۵۰mg\kg\day به صورت خوراکی استفاده گردید.

دستگاه شاتل باکس که توسط شرکت بیونیک مبین ساخته شده، یک جعبه از جنس پلکسی گلاس دو قسمتی است که یک بخش آن روشن و بخش دیگرش تاریک است. ابعاد دو ابعاد دو قسمت با هم برابر است(۲۰× ۴۰ × ۲۰ سانتی متر) و با یک دریچه ۸×۸

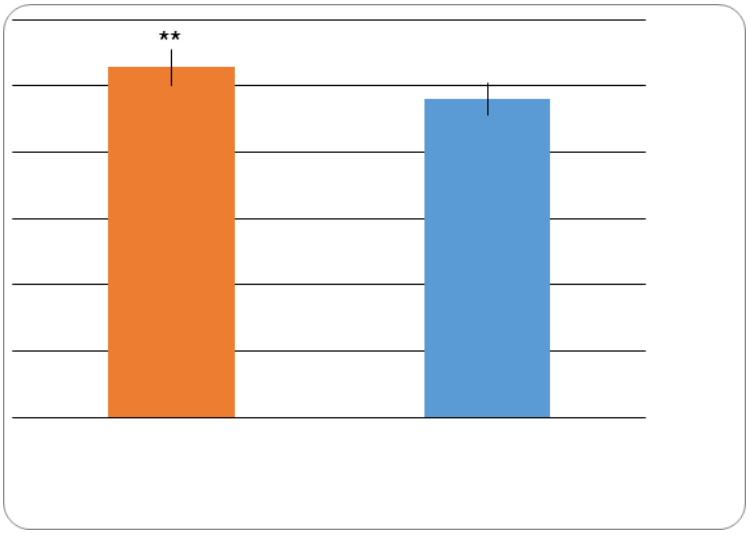
سانتی متر به هم راه دارند. در کف هردو بخش میله هایی از جنس فلز ضد زنگ به فاصله یک سانتی متر از هم قرار دارند. یک لامپ ۱۰۰ واتی ۴۰ سانتی متری بالای قسمت روشن دستگاه قرار دارد. کف قسمت تاریک دستگاه به یک مدار الکتریکی وصل است که با روشن شدن کلید مدار، جریان الکتریکی با مدت، شدت و فرکانس تعیین شده از کف آن عبور می کند. مرحله آموزش

۳۰ دقیقه پس از مرحله سازش انجام گرفت حیوان در محیط روشن دستگاه قرار می‌گرفت، بعد از ۳۰ ثانیه درب گیوتینی ا باز شده ومدت زمانی که طول می‌کشید تا وارد اتاق تاریک شود(Step Through Latency) ثبت می‌گردید. پس از ورود درب بسته شده و شوک پایی (50HZ,5s, 1.5 mA) وارد می‌شد.

یک روز پس از مرحله اکتساب، تست به خاطر آوری انجام می شد به این ترتیب که حیوان در محیط روشن دستگاه قرار می‌گرفت بعد از ۳۰ ثانیه درب گیوتینی باز شده ومدت زمانی که طول می‌کشید تا وارد اتاق تاریک شود ثبت می‌گردید. این مرحله وقتی به اتمام می‌رسید که حیوان به مدت ۳۰۰ ثانیه در دستگاه بود.

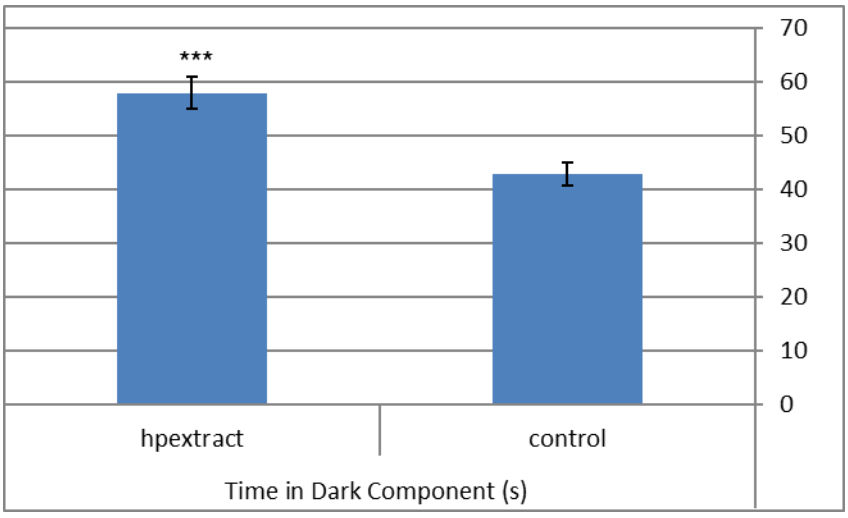
جهت ارائه نتایج آزمون یادگیری داده ها توسط نرم افزارSPSS و روش آماری ANOVA یک طرفه مورد تجریه وتحلیل قرار گرفتند. در تمامی آزمایشات $p < ۰/۰۰۱$ به عنوان اثر معنی دار تلقی شد.

یافته های این تحقیق نشان داد بین گروه دریافت کننده ۳۵۰میلی گرم بر گیلوگرم عصاره هایپریکوم بعد از یک هفته تیمار شدن و گروه کنترل تفاوت معنی داری ($P< ۰,۰۵$) در زمان تأخیر در ورود به اتاق تاریک در روز اول بعداز مرحله اکتساب وجود دارد(شکل۱).



شکل۱ - مقایسه تأخیر در ورود به قسمت تاریک در یادگیری اجتنابی غیر فعال بین گروه کنترل و گروه عصاره هایپریکوم نتایج به صورت میانگین ±خطای معیار (SEM) بوده و تعداد نمونه در هر گروه۶ سر و علامت** نشان دهنده P<.۰۵ در مقایسه با گروه کنترل است.

مقایسه مدت زمان اقامت در قسمت تاریک در یادگیری اجتنابی غیر فعال بین گروه کنترل و گروه عصاره علف چای



شکل۲ -مقایسه مدت زمان اقامت در قسمت تاریک در یادگیری اجتنابی غیر فعال بین گروه کنترل و گروه عصاره علف چای نتایج به صورت میانگین ±خطای معیار (SEM) بوده و تعداد نمونه در هر گروه۶ سر و علامت** نشان دهنده۰,۰۰۱ >P در مقایسه با گروه کنترل است

بحث و نتیجه گیری

نتایج نشان می‌دهد عصاره هایپریکوم سبب بهبودتثبیت یادگیری اجتنابی غیر فعال در موش‌های صحرائی نر بالغ نژاد ویستار می‌شود واحتمال می رود این اثر مربوط به هیپرسین باشد. این مسئله موید آن است که در خصوص حفظ و به یاد آوری اطلاعات که با اندازه گیری زمان تاخیر در حین عبور و مدت زمان ماندن در اتاق تاریک انجام گرفت، تیمار با عصاره علف چای بر میزان تثبیت تأثیر مثبتی داشته است.

.درمان با عصاره هایپریکوم موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی ودر نتیجه تخفیف دژنراسیون در برخی نواحی مغز ی شامل قشر مغز و هیپوکامپ می گردد (۸) از آن جا که مدار های عصبی شناخته شده مربوط به یادگیری و حافظه در هیپو تالاموس ،هیپوکامپ و بطور کلی دستگاه لیمبیک و همچنین نئو کورتکس یافت شده اند می توان احتمال داد که این اثر ضد دژنراسیون توسط هایپریکوم نهایتا بر تبدیل حافظه کوتاه مدت به بلند مدت موثر است.این دقیقا توجیه کننده اثر تقویت کنندکی عصاره هایپریکوم بر روند تثبیت یادگیری شرطی اجتنابی غیر فعال می باشد . از طرف دیگر ، هر چند در مورد ماده موثره علف چای با اثر بارز بر روندهای شناختی و حافظه و یادگیری توافق حاصل نشده است ،ولی احتمال داده می شود که هیپریسین موجود در این گیاه با کاهش دادن جریانهای کلر فعال شده بر اثر ماده میانجی گابا موجب بهبود عملکرد حیوان در تستهای رفتاری مرتبط با حافظه و یادگیری می گردد(۹).

یک نیروی مؤثرعمده همه سیستم های نوروترانسمیتری به ویژه گلوتامات و آسپارتات که در یادگیری و حافظه نقش اساسی را ایفا می کنند ، غلظت یون سدیم است، زیرا که این انتقال دهنده ها توسط انتقال +Na فعال می شوند. در شرایطی که غلظت سدیم غشاء نورون ها را تغییر می دهد، خواه با کاهش +Na خارج سلولی و یا توسط بالا رفتن یون +Na داخل سلولی، به نظر می رسد که سیستم های نوروترانسمیتری را تقویت می کند. بنابراین هیپرفورین +Na داخل سلولی را افزایش داده و درمجموع باعث تقویت یادگیری و حافظه می شود .(۱۱و۱۰)

نتیجه گیری

عصاره هایپریکوم در مدل یادگیری اجتنابی غیر فعال در موش‌های صحرائی نر بالغ نژاد ویستار سبب بهبودتثبیت یادگیری می‌شود واحتمال می رود این اثر مربوط به هیپریسین باشد.

منابع

1-Wich M. Herbal druge and phytopharmaceutical . London Press CRC1994.p. 273-5 .

2- Kasper S**.** Hypericum perforatum: a review of clinical studies. Pharmacopsychiatry 34 Suppl. View

Record in Scopus 2001;47:s51-s55 .

3-Alan L,Miller ND, StJohn's wort. Hypericum perforatum: clinical effects on depression and other conditions. Alternative Madicine Review 1998;3(1):18-26.

4-Muller WE, Singer A, Wonnemann M, Hafner U, Rolli, M, Schafer C. Hyperforin represents the neurotransmitter reuptake inhibiting constituent of Hypericum extract. Pharmacopsychiatry 3 Suppl 1998;3(1):16-21.

5-Suzuki O,Katsumata Y, Oya M. Inhibition of MAO by Hypericin . Planta Medica 1984;50(3):272-4.

6.Hansson, O., Zetterberg, H., Buchhave, P., Londos, E., Blennow, K., and Minthon, L. Association between CSF biomarkers and incipient Alzheimer's disease in patients with mild cognitive impairment: a follow-up study. Lancet Neurol 2006:5, 228-234.

7.Tiraboschi, P., Hansen, L. A., Thal, L. J., and Corey-Bloom, J. The importance of neuritic plaques and tangles to the development and evolution of AD. Neurology2004: 62, 1984-1989.

8. EL-Sherbiny DA , Khalifa AE , Attia As ,Eldenshary Eel –D. Hypericum perforatum extract demonstrates antioxidant properties against elevated rat brain oxidative status induced by amnestic dose of scopolamine .pharmacol biochem behave 2003;76:525-533.

9. Widy-Tyszkiewicz E, Piechal A, Joniec I , Blecharz-Klin K . Long term administration of Hypericum perforatum improves spatial learning and memory in the water maze .biol pharm Bull 2002;25:1289-1294.

10.Malandro, M.S. and kilberg, M.S. Molecular biology of mammalian amino acid transporters. Ammu. Rev. Biochem1996; 65, 605-336.

11.Wonneman, M. et al.Inhibition of synaptosomal uptake of 3H- L-glutamate and 3H-GABA by hyperforin, a major constituent of St John`s. Neuropsychopharmacology2000; 23, 188-196.

Title: Effect of Hypericum perforatum extract on passive avoidance learning of male wistar rats

Abstract

Ageing could been resulted to increase of oxidative stress that could lead to damage of brain processes including cognitive functions. Since Hypericum extract have increasing effect on brain cognitive functions e.g. learning and memory , it's effect on passive avoidance learning of male wistar rats were examined.

Methods: 16 male wistar rats, each weighing about 250-300 g were divided into two groups, control and Hypericum extract group(animals administered with 350 mg/kg/day of Hypericum extract). All of groups had free access to water and food with no limitation. Hypericum extract was administrated orally each day for one week. The passive avoidance learning test was done in the shuttle box device following intending treatments for all groups and in similar conditions.

In this test, increased time delay for the first time of entry to the dark chamber and decreased staying time in the dark chamber considered as improved passive avoidance learning The data were analyzed by SPSS software and one-way ANOVA followed by the Tuckey test.

Findings: In compare to control group, passive avoidance indices were increased significantly. In other words, mean step through latency (STL) of H. perforatum group was 260 seconds and was higher than that of control group (240 seconds) significantly ($p < .001$).

Conclusion: Our results indicated that administered Hypericum extract could increase passive avoidance learning indices in rats.

.

Keywords: Hypericum extract, passive avoidance learning, memory, rat, shuttle box