

مقایسه‌ی اثرات ترکیبی چای سبز و آویشن شیرازی در یادگیری احترازی غیرفعال و نوروزنز هیپوکامپ در رت‌های نر نژاد ویستار

پریسا حسنی^۱، دکتر پریچهره یغمایی^۲، دکتر نسیم حیاتی رودباری^۳

نویسنده‌ی مسوول: گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاداسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران yaghmaei_p@yahoo.com

دریافت: ۹۳/۱۱/۶ پذیرش: ۹۴/۶/۷

چکیده

زمینه و هدف: آنتی اکسیدان‌ها و سایر اثرات زیستی فعال در چای سبز و آویشن شیرازی حایز اهمیت است. هدف از این پژوهش بررسی اثرات چای سبز و آویشن شیرازی بر یادگیری احترازی غیر فعال و نوروزنز هیپوکامپ در رت‌های نر نژاد ویستار می‌باشد. **روش بررسی:** حیوانات آزمایشگاهی به سه گروه کنترل (دست نخورده)، شم و گروه تجربی مورد بررسی قرار گرفتند. گروه شم میزان ۱ سی‌سی آب مقطر را از طریق گاواژ به مدت ۸ هفته دریافت کردند. گروه تجربی روزانه میزان ۰/۵ سی‌سی از دم کرده چای سبز و ۰/۵ سی‌سی آویشن شیرازی را با غلظت ۰/۰۴ گرم بر میلی‌لیتر از طریق گاواژ به مدت ۸ هفته دریافت نمودند. پس از بررسی آزمون رفتاری (دستگاه احترازی غیر فعال)، تراکم نورونی در هیپوکامپ موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت و داده‌ها با آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) بررسی شد. **یافته‌ها:** نتایج تحقیق حاضر نشان داد که چای سبز و آویشن شیرازی موجب افزایش معنی‌داری در به یادآوری حافظه در حیوانات گردیده‌اند. در بررسی‌های هیستولوژیک نیز افزایش تعداد نورون‌ها در نواحی هیپوکامپ مشاهده شد. **نتیجه‌گیری:** این یافته‌ها اثرات مثبت چای سبز و آویشن شیرازی را بر بهبود حافظه و نوروزنز نواحی CA3 و شکنج دندانه‌ای هیپوکامپ مغز رت‌ها نشان داد.

واژگان کلیدی: نوروزنز، چای سبز و آویشن شیرازی، یادگیری احترازی غیرفعال

مقدمه

شیمیایی پایدار در سلول‌های عصبی تعریف می‌گردد که موجب فعال شدن نورون‌های جدید می‌شود. نوروزنز، توانایی بخش‌هایی از مغز بالغ به منظور حفظ قابلیت ارتقای رشد و تولید نورون‌ها می‌باشد (۱ و ۲). چای سبز از گیاه *Camellia sinensis* با حداقل اکسیداسیون در طول پردازش به دست می‌آید. خواص آنتی‌اکسیدانی برگ‌های چای سبز

گیاهان دارویی نقش مهمی را در زمینه‌های بهداشتی و پزشکی ایفا می‌کنند. مطالعه چگونگی تاثیر مناطق مغزی در ایجاد ارتباطات جهت تشکیل مدارهای عصبی و رفتاری قابل توجه است. هیپوکامپ در تثبیت خاطرات، یادگیری و جهت‌یابی نقش دارد. حافظه تغییرات رفتار ناشی از تجربه است. یادگیری، دستیابی به حافظه و ایجاد کننده تغییرات

۱- کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشگاه آزاداسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران

۲- دکتری فیزیولوژی جانوری، دانشیار گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاداسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران

۳- دکتری سلولی تکوینی جانوری، استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاداسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران

نسبت به انواع دیگر چای به دلیل روش و نوع پردازش آن غنی تر است. چای سبز حاوی ویتامین‌های B، C، E، فولات، برخی از عناصر، کافئین، پلی فنول و فلاونوئیدها، فیتوکمیکال‌ها و اسیدهای فنلی می‌باشد. مصرف چای سبز در بیماری آلزایمر مفید گزارش شده است (۳ و ۴). آویشن شیرازی گیاهی از تیره نعناعیان (Lamiaceae) و دارای طبع گرم و خشک می‌باشد. از قسمت سر شاخه‌ها و برگ‌های آن استفاده می‌شود و منبع غنی از پتاسیم، آهن، کلسیم، پنتوزان، منیزیم و منگنز، ویتامین‌های A، B، C، E، K، فیتوهورمون‌ها، اسانس‌های فنولی و فنول‌ها، اسیدهای فنلی و فلاونوئیدها می‌باشد. تحریک سیستم عصبی مرکزی و تقویت اعصاب از فعالیت‌های بیولوژیکی آویشن شیرازی ذکر شده است (۵-۱۱). بنابراین وجود برخی از این مواد مغذی و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی در چای سبز و آویشن شیرازی و همچنین دسترسی آسان، عوارض و هزینه کمتر و داشتن کاربردهای درمانی - دارویی آن‌ها نسبت به روش‌های سنتتیک و شیمیایی قابل توجه است. به این دلیل که تا به حال تحقیقی بر روی اثرات چای سبز و آویشن شیرازی در یادگیری احترازی غیرفعال و نوروزن هیپوکامپ در جهان و ایران صورت نگرفته و این کار برای اولین بار انجام شده است این تحقیق می‌تواند سودمند باشد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی از رت‌های نر نژاد ویستار (وزن تقریبی ۲۳۰ تا ۲۸۰ گرم) که از انستیتو پاستور تهیه شدند، استفاده گردید. نگهداری حیوانات مطابق با راهنمای انستیتوی ملی سلامت انجام شد. چای سبز بین فومن و رشت جمع‌آوری گردید و با کد IAUH-000014813 به تایید هرباریوم واحد علوم و تحقیقات تهران رسید. آویشن شیرازی از کهگیلویه و بویراحمد؛ در نزدیکی شهر لیکک (تنگ سولک)، بعد از دریاچه برم الوان جمع‌آوری شد و با کد

IAUH-000014849 توسط هرباریوم واحد علوم و تحقیقات تهران تایید گردید. ۲۱ سر رت نر در ۳ گروه ۷ تایی تقسیم شدند. جهت تهیه دم کرده چای سبز و آویشن شیرازی، ۴ گرم چای سبز و آویشن شیرازی را به‌طور جداگانه در ۱۰۰ میلی لیتر آب ۸۰ درجه ریختیم و به مدت ۱۰ دقیقه دم کردیم (۰/۰۴ گرم در میلی لیتر) سپس دم کرده‌ها را همراه با سرنگ انسولین و لوله گاوآژ به رت‌ها براساس گروه بندی به مدت هشت هفته گاوآژ داده شد.

۱- رت‌های گروه کنترل دست نخورده (intact) باقی ماندند.
۲- رت‌های گروه شم روزانه ۱ سی سی آب مقطر را به صورت خوراکی (گاوآژ) دریافت کردند.

۳- رت‌های گروه تجربی میزان ۰/۵ سی سی از دم کرده چای سبز و ۰/۵ سی سی آویشن شیرازی را با دوز ۰/۰۴ گرم در میلی لیتر دریافت کردند. گروه تجربی از طریق گاوآژ به مدت ۸ هفته تیمار شدند.

پس از هشت هفته آزمون رفتاری یادگیری احترازی غیرفعال (Passive Avoidance Learning: PAL) با استفاده از دستگاه شاتل باکس ساخت شرکت مبین بیونیک انجام گرفت. مراحل سازش، آموزش و به یادآوری اجرا شد و پاسخ شرطی احترازی غیر فعال در موش‌ها بررسی و ثبت گردید. شاتل باکس از دو قسمت جعبه آموزش و دستگاه کنترل کننده تشکیل شده است (۱۲) و ابعاد جعبه نیز ۶۰×۱۸×۱۸ سانتی متر است. آزمایش‌ها در طول روز و در اتاقی بدون سر و صدا انجام شد. ابتدا رت‌های تمام گروه‌های آزمایشی به روش زیر به دستگاه عادت داده شدند. ۶۰ ثانیه بعد از قرار دادن حیوان در قسمت روشن دستگاه، دریچه بین قسمت تاریک و روشن باز شده و بلافاصله بعد از ورود حیوان به قسمت تاریک دریچه بسته شده و حیوان از قسمت تاریک گرفته و به قفس بازگردانده شد. این عمل چند ثانیه بعد دوباره تکرار گردید (سازش یافتن) ۳۰ دقیقه پس از دو بار روند سازش، اکتساب به روش PAL آغاز شد. از آن جایی

و DG به روش شمارش و با مقیاس تعداد در هر میدان میکروسکوپی مورد مطالعه قرار داده شد (۱۴). داده‌های این تحقیق به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه گردید و با روش‌های مناسب آماری به وسیله آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) توسط نرم‌افزار SPSS با در نظر گرفتن $P < 0.05$ آنالیز شد. پس از بررسی نرمال بودن در تمام مقایسه‌ها در صورت نرمال بودن از Postoc تست Tukey استفاده گردید اما در صورت نرمال نبودن STL از روش آماری غیر پارامتریک کروسکال والیس استفاده شد.

یافته‌ها

در روز آزمون که ۲۴ ساعت پس از روز آموزش انجام شد، میانگین مدت زمان ماندن در اتاق روشن در تمام گروه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمون یادگیری احترازی غیرفعال نشان داد که تفاوت معنی‌داری در یادگیری و عملکرد گروه تجربی نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد و گروه تجربی، مدت زمان بیشتری را در اتاق روشن دستگاه یادگیری احترازی غیرفعال به سر بردند که این تفاوت معنی‌دار به نظر می‌رسد ($P < 0.01$) (نمودار ۱).

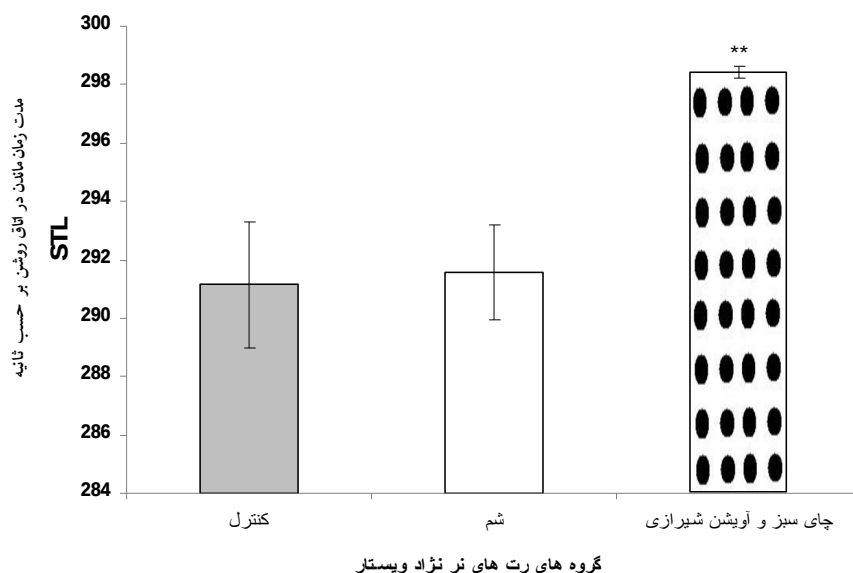
نتایج حاصل از مشاهدات میکروسکوپی: بررسی‌های میکروسکوپی این پژوهش از ناحیه هیپوکامپ مغز گروه کنترل و شم نشان داد که گروه‌های مذکور در سلامت کامل بودند. بررسی‌های هیستولوژیکی نیز اختلاف معنی‌داری را در تعداد نورون‌های ناحیه CA3 هیپوکامپ مغز رت‌های گروه تجربی نسبت به گروه کنترل نشان داد ($P < 0.05$) (نمودار ۲). همچنین بررسی انجام شده بر روی تعداد نورون‌های منطقه شکنج دندان‌ای، نشان داد که گروه تجربی نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌داری دارد ($P < 0.01$) (نمودار ۳). دو بخش هیپوکامپ را شکنج دندان‌ای و شاخ آمون (CA3) Ammon Horn-Cornu Ammonis تشکیل می‌دهند (۱۵).

که رت‌ها به‌طور ذاتی تمایل به ورود به قسمت تاریک را دارند، بلافاصله بعد از ورود رت به قسمت تاریک، دریچه بین دو قسمت بسته شده و شوک الکتریکی با فرکانس ۵۰ هرتز با شدت ۱ میلی‌آمپر به مدت ۳ ثانیه به حیوان اعمال شد. بعد از ۵ ثانیه رت از قسمت تاریک گرفته شده و موقتاً به قفس بازگردانده شد. دو دقیقه بعد رفتار رت همانند قبل آزمایش شده و عدم ورود به قسمت تاریک (روش اجتنابی مهار) در مدت ۳۰۰ ثانیه به عنوان اکتساب موفقیت آمیز آموزش احترازی غیرفعال در نظر گرفته شد. در غیر این صورت با ورود حیوان به قسمت تاریک برای بار دوم در بسته می‌شد و حیوان برای بار دوم همان شوک بالا را دریافت می‌کرد. یک روز بعد از آموزش، رت در قسمت روشن قرار داده شده و ۶۰ ثانیه بعد دریچه مابین قسمت روشن و تاریک باز شد. زمان تاخیر حیوان در ورود به بخش تاریک دستگاه به عنوان معیاری برای بررسی میزان حافظه در نظر گرفته می‌شد. زمانی که طول می‌کشید تا حیوان وارد قسمت تاریک شود (Step Through Latency: STL) و مدت زمانی که آن‌جا باقی می‌ماند (TDC: Time in Dark Chamber) یادداشت می‌شد (۱۳).

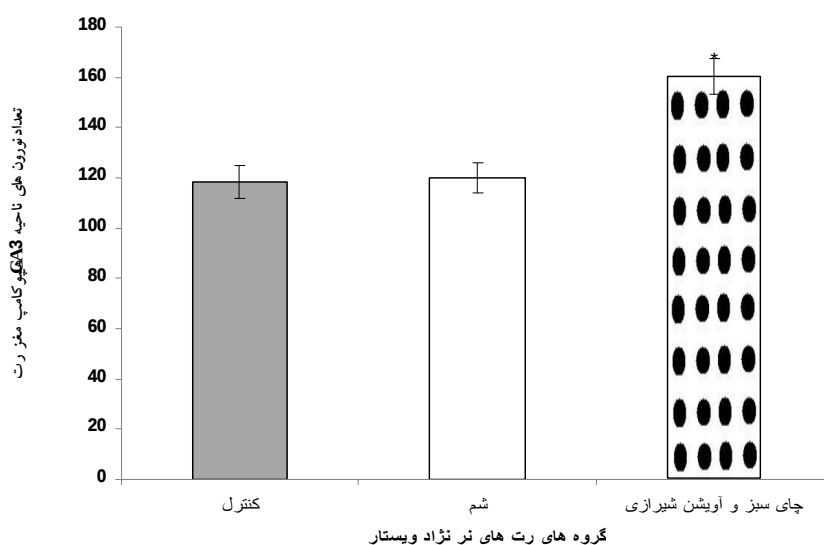
شوک الکتریکی در مرحله آزمون انجام نمی‌شود. بعد از انجام آزمون رفتاری جهت بررسی و مطالعه میکروسکوپی از مغز نمونه برداری کرده در فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد (Fixation). بعد از تهیه نمونه مراحل آب‌گیری را با الکال‌های صعودی، شفاف سازی و آغشته‌گری را با پارافین انجام داده و برش‌ها از ناحیه هیپوکامپ توسط میکروتوم (Leica RM2255 ساخت کشور آلمان) به ضخامت ۶ میکرون تهیه شد که با استفاده از هماتوکسیلین و ائوزین رنگ آمیزی نمونه‌ها را انجام داده و مناطق هیپوکامپ مورد بررسی‌های میکروسکوپی قرار گرفت. در بررسی میکروسکوپی سلول‌های نواحی CA3 (Cornu Ammonis 3)

تجربی تفاوت معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان دادند (نمودار ۱) ($P < 0.01$).

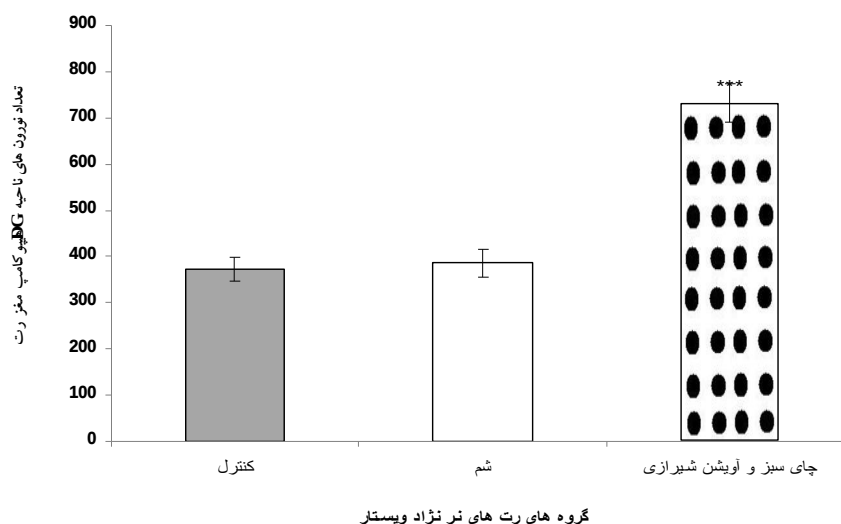
بررسی نورون‌ز و تغییرات ناحیه هیپوکامپ در گروه‌های آزمایشی؛ در بررسی داده‌های به دست آمده از آزمون رفتاری، عملکرد بهتر و تقویت حافظه و یادگیری در رت‌های گروه



نمودار ۱: مقایسه میانگین مدت زمان ماندن در اتاق روشن (مقایسه یادگیری احترازی غیرفعال) در روز آزمون بین گروه‌های مورد بررسی می‌باشد که بر حسب میانگین $\pm$ انحراف استاندارد رسم شده است. علامت (***) بیانگر اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل می‌باشد. $P < 0.01$



نمودار ۲: مقایسه میانگین تعداد نورون‌های ناحیه CA3 هیپوکامپ از برش مغز رت بین گروه‌های مورد بررسی می‌باشد که بر حسب میانگین $\pm$ انحراف استاندارد رسم شده است. علامت (*) بیانگر اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل می‌باشد. $P < 0.05$



نمودار ۳. مقایسه تعداد نورون های ناحیه DG هیپوکامپ از برش مغز رت بین گروه های مورد بررسی می باشد که بر حسب میانگین $\pm$ انحراف استاندارد رسم شده است. علامت (***) بیانگر اختلاف معنی دار با گروه کنترل می باشد. $P < 0.001$ ***

شم (۲۹۱/۵۷ ± ۱۶۳) می باشد و تفاوت معنی داری بین دو گروه کنترل و شم وجود ندارد ($P > 0.05$). یافته های این مطالعه نشان داد که بین گروه کنترل (۲۹۱/۱۴ ± ۲/۱۷) و گروه تجربی (۲۹۸/۴۲ ± ۰/۲۰) تفاوت معنی داری وجود دارد ($P < 0.001$) (جدول ۱). در بررسی هیستولوژیک و شمارش سلول های ناحیه CA3 بین گروه کنترل (۱۱۸/۴۲ ± ۶/۷۲) و گروه شم (۱۲۰ ± ۵/۸۴) تفاوت معنی داری بین این دو گروه وجود ندارد. بین گروه کنترل (۱۱۸/۴۲ ± ۶/۷۲) و گروه تجربی (۱۶۰/۴۲ ± ۷/۲۵) تفاوت معنی داری مشاهده شد ($P < 0.05$).

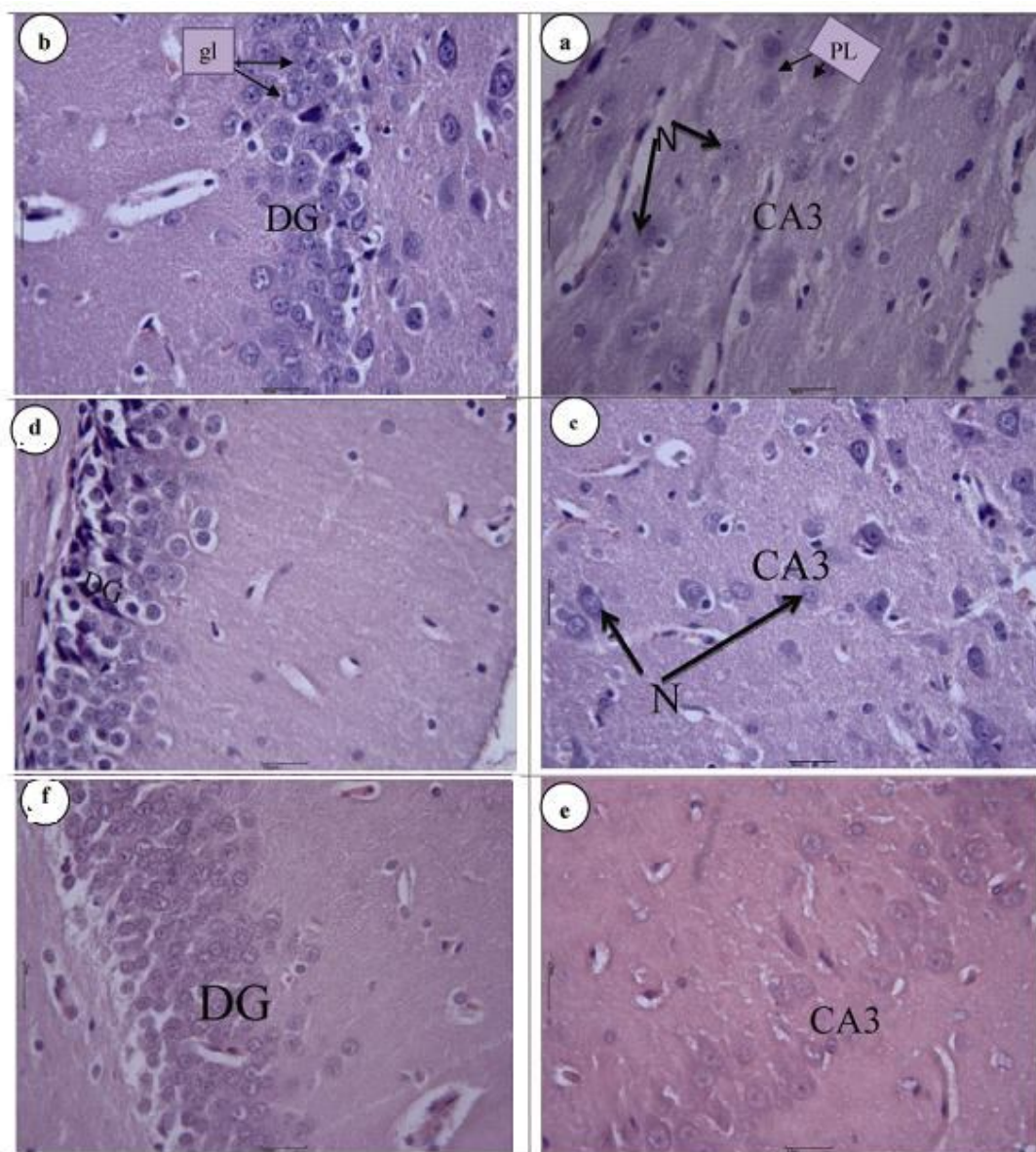
با بررسی های هیستولوژیک در این پژوهش بعد از رنگ آمیزی، تعداد سلول ها در نواحی CA3 ($P < 0.05$) (تصویر ۱-e) و شکنج دندانهای و هیپوکامپ ($P < 0.001$) (تصویر ۱-f) با تجویز چای سبز و آویشن شیرازی در مقایسه با گروه کنترل (تصاویر ۱-a و ۱-b) و شم (تصاویر ۱-c و ۱-d) نمودارهای ۲ و ۳ افزایش نشان داد و تفاوت معنی دار به نظر رسید. همان گونه که مشاهده می شود زمان STL در گروه های کنترل و شم تقریباً نزدیک به هم بوده که در بررسی انجام شده متغیر STL بین گروه کنترل (۲۹۱/۱۴ ± ۲/۱۷) و گروه

جدول ۱: نتایج تحلیل آماری زمان STL که تعداد نورون های منطقه CA3 و DG در گروه های کنترل، شم و تجربی ($\pm$ SEM)

مشاهده / تیمار	تجربی	شم	کنترل
زمان STL (ثانیه)	۲۹۸/۴۲ ± ۰/۲۰	۲۹۱/۵۷ ± ۱/۶۳	۲۹۱/۱۴ ± ۲/۱۷
تعداد نورون های ناحیه CA3 (مقیاس شمارش)	۱۶۰/۴۲ ± ۷/۲۵	۱۲۰ ± ۵/۸۴	۱۱۸/۴۲ ± ۶/۷۲
تعداد نورون های ناحیه شکنج دندانهای (مقیاس شمارش)	۷۳۱/۸۵ ± ۴۱/۵۰	۳۸۷/۱۴ ± ۲۹/۶۰	۳۷۲/۲۸ ± ۲۴/۸۳

همچنین در بررسی هیستولوژیک و شمارش سلول‌های ناحیه DG بین گروه کنترل ($372/28 \pm 24/83$) و گروه شم با میانگین ($386/14 \pm 29/60$) تفاوت معنی‌داری بین این دو

گروه وجود ندارد. در صورتی که بین گروه کنترل ($731/85 \pm 41/50$) و گروه تجربی ($372/28 \pm 24/83$) تفاوت معنی‌داری مشاهده می‌شود ($P < 0.001$) (***) (جدول ۱)



تصویر ۱: تصاویر مربوط به نواحی CA3 و DG بافت هیپوکامپ مغز رت‌های نژاد ویستار رنگ آمیزی H & E. مناطق CA3 با بزرگنمایی 400X و مناطق DG با بزرگنمایی 100X مشاهده می‌شود

- (a): منطقه CA3 هیپوکامپ رت از گروه کنترل با بزرگنمایی 400X
 (b): منطقه DG (شکنج دندانه‌ای) هیپوکامپ رت از گروه کنترل با بزرگنمایی 100X
 (c): برش مغزی از منطقه CA3 هیپوکامپ رت گروه شم با بزرگنمایی 400X
 (d): منطقه شکنج دندانه‌ای هیپوکامپ رت از گروه شم با بزرگنمایی 100X
 (e): برش مغزی هیپوکامپ رت از گروه تجربی. فراوانی سلول‌های ناحیه CA3 با بزرگنمایی 400X
 (f): برش مغزی هیپوکامپ رت از گروه تجربی. فراوانی سلول‌های ناحیه شکنج دندانه‌ای با بزرگنمایی 100X

بحث

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که گاوآژ ترکیب دم کرده چای سبز و آویشن شیرازی، حافظه و یادگیری را تحت تاثیر قرار می دهد و می تواند وضعیت رضایت بخشی را در تقویت و بهبود حافظه و یادگیری داشته باشد. نقش هیپوکامپ در بسیاری از فرآیندهای تشکیل حافظه شناخته شده است. شکنج دندانهای بخشی از تشکیلات هیپوکامپ (۱۶) می باشد که نقش مهمی را در حافظه و یادگیری دارد (۱۸ و ۱۷). پریکائرتس و همکارانش در سال ۲۰۰۴ گزارش کردند که نوروزنز در نقاط محدودی از مغز مانند شکنج دندانهای صورت می گیرد و شامل مراحل تولید نورونهای جدید از طریق تقسیم سلولهای پیش ساز، مهاجرت سلولهای جدید به لایه گرانولار می باشد که می تواند تکثیر و تمایز سلولهای مذکور را تحت تاثیر قرار دهد. همچنین نوروزنز می تواند توسط یادگیری مدوله شود و امروزه در پژوهش ها، تکثیر سلولی در شکنج دندانهای هیپوکامپ را نتیجه ای از یادگیری می دانند (۱۹). کمپرمان و همکارانش در سال ۱۹۹۷ بیان کردند که یادگیری، نوروزنز را تحریک می کند و نقش نورونهای جدید در یادگیری حایز اهمیت است (۲۰). در این پژوهش احتمالاً چای سبز و آویشن شیرازی موجب تحریک نوروزنز در هیپوکامپ شده است که بهبود حافظه و یادگیری در آزمون رفتاری احترازی غیرفعال مشاهده شد. تکثیر نورون ها به واسطه ای ایجاد ارتباطات جدید در شبکه نورونی می تواند در بهبود حافظه و یادگیری حیوانات موثر باشد.

دنگ و همکارانش در سال ۲۰۱۰ بیان کردند که نوروزنز به عنوان شکل مهمی از پلاستیسته هیپوکامپ شناخته می شود و در یادگیری و حافظه نقش دارد (۲۱). مبدا تمایز نوروبلاست ها و ایجاد نورونهای جدید در پستانداران، هیپوکامپ است. نورون ها پس از مهاجرت و قرار گرفتن در مدارهای نورونی هیپوکامپ با برقراری سیناپس های جدید،

فعال شده و نقش عملکردی خود را آغاز می کنند (۲۴-۲۲). در این پژوهش، به نظر می رسد که چای سبز و آویشن شیرازی موجب تحریک نوروزنز می شوند و افزایش تعداد نورون ها در بررسی های میکروسکوپی نشان می دهد که احتمالاً نوروزنز توسط می تواند در حافظه و عملکردهای شناختی موثر باشد.

آزمون رفتاری احترازی غیرفعال به منظور بررسی حافظه بلند مدت در جوندگان استفاده می شود. در این آزمون، اجتناب از انجام تقلید عادات؛ آموزش داده می شود که در آن حیوانات جلوگیری از یک رویداد را با سرکوب رفتار خاصی می آموزند (۲۶ و ۲۵). کسندر در سال ۲۰۰۷ در گزارش خود به نقش CA3 در فرآیندهای حافظه از جمله حافظه کوتاه مدت و کسب اطلاعات جدید اشاره کرد (۲۷). نواحی شکنج دندانهای (۲۸) و CA3 هیپوکامپ در حافظه و پردازش صحیح اطلاعات حایز اهمیت می باشند (۲۹). شکنج دندانهای بخشی از ناحیه CA3 را پوشش می دهد. فبرهای سلولهای گرانولار شکنج دندانهای به سمت سلولهای هرمی CA3 فرستاده می شوند (۳۰). در پژوهش حاضر احتمالاً تعامل نواحی CA3 و DG در مسیرهای عصبی هیپوکامپ، عملکردهای شناختی از جمله حافظه و یادگیری را تحت تاثیر قرار می دهد. در این مطالعه افزایش نورونهای نواحی CA3 و DG در مطالعات میکروسکوپی با تجویز چای سبز و آویشن شیرازی مشاهده شد.

گیاهان دارویی از نظر میزان متابولیت های ثانویه بسیار غنی می باشند. متابولیت های ثانویه دارای اثرات فیزیولوژیکی مهم و تاثیرگذاری می باشند و موجب فعال سازی مکانیسم های دخیل در حافظه و یادگیری شود (۳۱). این گیاهان در طیف وسیعی از عملکردهای فیزیولوژیکی مانند مهار رادیکال های آزاد، تولید بیش از اندازه گونه واکنشی اکسیژن (ROS) و آسیب DNA جلوگیری می کنند و اختلالات عملکردهای

بر روی توانایی‌های ذهنی پیشنهاد کردند که می‌تواند اختلالات یادگیری را به تاخیر اندازد (۳۵). نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که تجویز آویشن شیرازی همراه با چای سبز ممکن است موجب بهبود یادگیری و حافظه از طریق افزایش نورونز و تکثیر سلولی در نواحی CA3 و DG هیپوکامپ رت‌ها گردد که می‌تواند موافق با یافته‌های فوق بوده و موثر بر توانایی‌های ذهنی باشد.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که چای سبز و آویشن شیرازی بر بهبود حافظه و یادگیری و نورونز نواحی CA3 و شکنج دندانهای هیپوکامپ موش‌های صحرایی تاثیر مثبتی دارد

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از حوزه‌ی معاونت پژوهشی واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی به دلیل حمایت مالی و ارایه امکانات و تجهیزات آزمایشگاهی جهت انجام این پژوهش در قالب پایان نامه کارشناسی ارشد و از جناب آقای دکتر خوانساری سپاسگزاری و تقدیر می‌گردد.

شناختی را کاهش داده یا به تاخیر می‌اندازند. مغز به دلیل مصرف میزان بالای اکسیژن و تولید رادیکال‌های آزاد مستعد ابتلا به آسیب‌های اکسیداتیو است (۳۲). مطالعات بسیاری، نقش مهم تراکم نورون‌ها را در مدار هیپوکامپ نشان می‌دهند که موجب افزایش قدرت حافظه می‌گردد. در این مطالعه می‌توان احتمال داد متابولیت‌های ثانویه موجود در چای سبز و آویشن شیرازی در تقویت حافظه، تثبیت و ذخیره‌ی اطلاعات در آزمون احترازی غیر فعال نقش داشته باشند. تراکم نورونی در بررسی‌های میکروسکوپی در هیپوکامپ رت‌ها مشاهده شد. میرزا و همکارانش در سال ۲۰۱۳ بیان کردند که چای سبز، رفتار حرکتی را در حیوانات افزایش می‌دهد و این افزایش فعالیت ممکن است به دلیل هوشیاری و بهبود عملکردهای شناختی باشد (۳۳). در این پژوهش، مطالعه حرکت و عملکرد می‌تواند در تعامل با حافظه، یادگیری و در نتیجه تصمیم‌گیری باشد که در عملکرد شناختی تاثیر بگذارد. در همین سال ژانگ و همکارانش پیشنهاد کردند که چای سبز، توانایی یادگیری را افزایش می‌دهد. مصرف منظم چای سبز می‌تواند موجب حفظ پایدار در تمرکز افکار شود و اثرات سودمندی بر سلامت مغز داشته باشد (۳۴). مجلسی و همکارانش در سال ۲۰۱۲ اثرات مفید گیاه آویشن شیرازی را

References

- 1- Zainuddin MS, Thuret S. Nutrition, adult hippocampal neurogenesis and mental health. *Br Med Bull*. 2012; 103: 89-114.
- 2- Okano H, Hirano T, Balaban E. Learning and memory. *Pnas*. 2000; 97: 12403-4.
- 3- Chacko SM, Thambi PT, Kuttan R, Nishigaki I. Beneficial effects of green tea: a literature review. *Chin Med*. 2010; 6: 13.
- 4- Cabrera C1, Artacho R, Giménez R. Beneficial

effects of green tea--a review. *J Am Coll Nutr*. 2006; 25: 79-99.

- 5- Zhao L, Wang JL, Liu R, et al. Neuroprotective, anti-amyloidogenic and neurotrophic effects of apigenin in an alzheimer's disease mouse model. *Molecules*. 2013; 18: 9949-65.
- 6- Jang S, Dilger RN, Johnson RW. Luteolin inhibits microglia and alters hippocampal-dependent spatial working

- memory in aged mice. *J Nutr.* 2010; 140: 1892-8.
- 7- Cotarca M. Valorizing thymus glabrescens willd. The aninel mountains. *Research Journal of Agricultural Science.* 2010; 42: 260-62.
- 8- Hossain MA, AL-Raqmi KA, AL-Mijizy ZH, Weli AM, Al-Riyami Q. Study of total phenol, flavonoids contents and phytochemical screening of various leaves crude extracts of locally grown *Thymus vulgaris*. *Asian Pac J Trop Biomed.* 2013; 3: 705-10.
- 9- Grigore A, Paraschiv Ina, Colceru-Mihul S, Bubueanu C, Draghici E, Ichim M. "Chemical composition and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* L. volatile oil obtained by two different methods. *Romanian Biotechnological Letters.* 2010; 15: 5274-80.
- 10- Pauling L. Evolution and the need for ascorbic acid. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1970; 67: 1643.
- 11- Benzie IFF. Evolution of dietary antioxidants. *Comp Biochem Physiol A Mol Int Physiol.* 2003; 136: 113-26.
- 12- Spinella M. The importance of pharmacological synergy in psychoactive herbal medicines. *Altern Med Rev.* 2002; 7: 130-7.
- 13- Urban IJ, Ontskul A, Croiset G, Cheng Y, de Wied D. A long-lasting increase and decrease in synaptic excitability in the rat lateral septum are associated with high and low shuttle box performance, respectively. *Behav Brain Res.* 1995; 68: 173-83.
- 14- Yaghmaei P, Parivar K, Masoudi A, Darab M, Amini E. The effect of silybin on passive avoidance learning and pathological changes in hippocampal CA1 and DG regions in male wistar rats offspring. *J Asian Nat Prod Res.* 2009; 11: 514-22.
- 15- Jones MW, McHugh TJ. Updating hippocampal representations: CA2 joins the circuit. *Neurosciences.* 2011; 34: 52635.
- 16- Kempermann G. Why new neurons? possible functions for adult hippocampal neurogenesis. *J Neurosci.* 2002; 22: 635-8.
- 17- Fan XT, Cai WQ, Yang Z, Xu HW, Zhang JH. Effect of antisense oligonucleotide of noggin on spatial learning and memory of rats. *Acta Pharmacol Sin.* 2003; 24: 394-7.
- 18- Jahanshahi M, Sadeghi Y, Hosseini A, Naghdi N. The effect of spatial learning on the number of astrocytes in rat dentate gyrus. *J Gorgan Uni Med Sci.* 2008; 10: 5-10.
- 19- Prickaerts J, Koopmans G, Blokland A, Scheepens A. Learning and adult neurogenesis: survival with or without proliferation?. *Neurobiol Learn Mem.* 2004; 81: 1-11.
- 20- Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH . More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature.* 1997; 386: 493-95.
- 21- Deng W, Aimone JB, Gage FH. New neurons and new memories: how does adult hippocampal neurogenesis affect learning and memory? *Nat Rev Neurosci.* 2010; 11: 339-50.
- 22- Emsley JG, Mitchell BD, Kempermann G, Macklis JD. Adult neurogenesis and repair of the adult CNS with neural progenitors, precursors, and stem cells. *Prog Neurobiol.* 2005; 75: 321-41.

- 23- Lledo PM, Alonso M, Grubb MS. Adult neurogenesis and functional plasticity in neuronal circuits. *Nat Rev Neurosci*. 2006; 7: 179-93.
- 24- Schmidt-Hieber C, Jonas P, Bischofberger J. Enhanced synaptic plasticity in newly generated granule cells of the adult hippocampus. *Nature*. 2004; 429: 184-7.
- 25- Izquierdo I, Bevilaqua LR, Rossato JI, Bonini JS, Medina JH, Cammarota M. Different molecular cascades in different sites of the brain control memory consolidation. *Trends Neurosci*. 2006; 29: 496-505.
- 26- Narwal S, Saini DR, Kumari K, et al. Behavior and pharmacological animal models for the evaluation of learning and memory condition. *Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2012; 2: 121-29.
- 27- Kesner RP. Behavioral functions of the CA3 subregion of the hippocampus. *Learn Mem*. 2007; 14: 771-81.
- 28- Lugert S, Basak O, Knuckles P, et al. Quiescent and active hippocampal neural stem cells with distinct morphologies respond selectively to physiological and pathological stimuli and aging. *Cell Stem Cell*. 2010; 6: 445-56.
- 29- Ahmadpour SH, Sadeghi Y, Sheibanifar M, Haghiri H. Effect of insulin and L-ascorbic acid on rate of neuronal apoptosis in dentate gyrus and CA3 region of hippocampus in type 1 diabetic rats. *J Hormozgan Univ Med Sci*. 2010; 13: 234-45.
- 30- Williams PL, Bannister LH, Berry MM, Collins P, Dyson M, Dussek JE. Gray's Anatomy. In: Nervous system. 38th. London. *Churchill Livingstone*. 1995; pp: 1123-29.
- 31- Kennedy DO, Wightman EL. Herbal extracts and phytochemicals: plant secondary metabolites and the enhancement of human brain function. *Adv Nutr*. 2011; 2: 32-50.
- 32- Vingtdeux V, Dreses-Werringloer U, Zhao H, Davies P, Marambaud P. Therapeutic potential of resveratrol in alzheimer's disease. *BMC Neurosci*. 2008; 9: S6.
- 33- Mirza B, Ikram H, Bilgrami S, Haleem DJ, Haleem MA. Neurochemical and behavioral effects of green tea (*Camellia sinensis*): a model study. *Pak J Pharm Sci*. 2013; 26: 511-6.
- 34- Zhang Q, Yang H, Wang J, et al. Effect of green tea on reward learning in healthy individuals: a randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study. *Nutr J*. 2013; 12: 84-89.
- 35- Majlessi N, Choopani S, Kamalinejad M, Azizi Z. Amelioration of amyloid β -induced cognitive deficits by *Zataria multiflora* Boiss. essential oil in a rat model of alzheimer's disease. *CNS Neurosci Ther*. 2012; 18: 295-301.

Combined Effects of *Green Tea* and *Zataria Multiflora Boiss* on Passive Avoidance Learning and Hippocampus Neurogenesis in Wistar Male Rats

Hassani P¹, Yaghmaei P¹, Hayati Roodbari N¹

¹Dept. of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Corresponding Author: Yaghmaei P, Dept. of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

E-mail: yaghmaei_p@yahoo.com

Received: 26 Jan 2015 **Accepted:** 29 Aug 2015

Background and Objective: Antioxidants along with other active biological effects of *Green Tea* and *Zataria multiflora boiss* deserve paramount consideration. This study was an attempt to evaluate the effects of *Green Tea* and *Zataria multiflora boiss* on passive avoidance learning and hippocampus neurogenesis in Wister male rats.

Materials and Methods: Upon assigning the rats to three groups of control (intact), sham and experimental, the sham group received 1 cc of distilled water by infusion for 8 weeks, whereas the experimental group received 0.5 cc of green tea and 0.5 cc of *Zataria multiflora boiss* infusion, with concentration of 0.04 g/ml via oral gavage daily for 8 weeks. Subsequent to administration of behavioral test (Passive avoidance learning), density of neurons in the rats' hippocampus was microscopically assessed and one-way ANOVA test was implemented for data analysis.

Results: *Green tea* and *Zataria multiflora boiss* significantly enhanced memory recall in animals. In the meantime, over histologic analysis, augmentation in the number of neurons in the hippocampus regions was observed.

Conclusion: These findings verify the beneficial remedial effects of *green tea* and *Zataria multiflora boiss* on improvement of memory, neurogenesis of CA3 regions and dentate gyrus in rat hippocampus.

Keywords: *Neurogenesis, Green Tea and zataria multiflora boiss, Passive avoidance learning*