

بررسی اثر تجویز خوراکی و درازمدت بخش هوایی ماریتیغال بر یادگیری و حافظه ی موش صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین

دکتر مهرداد روغنی*، دکتر توراندخت بلوچ نژاد مجرد**، مریم فلاح محمدی***

نویسنده ی مسئول: تهران، دانشکده ی پزشکی شاهد، گروه فیزیولوژی mehjour@yahoo.com

دریافت: ۸۵/۹/۲۵ پذیرش: ۸۶/۷/۱۶

چکیده

زمینه و هدف: دیابت قندی به ویژه نوع ۱ موجب بروز اختلال در روندهای مرتبط با یادگیری، حافظه و شناخت در جامعه ی انسانی و حیوانات آزمایشگاهی می گردد. با توجه به اثر سودمند گیاه ماریتیغال بر سطح پراکسیداسیون لیپیدی در مدل تجربی هیپرلیپیدمی و سطح چربی های سرم در مدل تجربی دیابت قندی، اثر تجویز خوراکی و درازمدت این گیاه بر یادگیری و حافظه در موش های صحرایی دیابتی مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: برای این منظور موش های صحرایی ماده (n=۳۶) به طور تصادفی به چهار گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با گیاه ماریتیغال، دیابتی و دیابتی تحت درمان با گیاه ماریتیغال تقسیم بندی شدند. دو گروه تحت تیمار با گیاه ماریتیغال، پودر گیاه مخلوط شده با غذای استاندارد موش (6/۲۵ درصد) را به مدت 4 هفته دریافت نمودند. برای دیابتی نمودن موش ها از استرپتوزوتوسین به شکل تک دوز و داخل صفاقی به میزان 6۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن حیوان استفاده گردید. به علاوه، برای بررسی حافظه و یادگیری حیوانات، میزان عملکرد از نظر تأخیر اولیه (Initial Latency) و تأخیر در حین عبور (Step-through Latency) در آزمون اجتنابی غیرفعال و درصد رفتار تناوب (Alternation behavior) با استفاده از تست ماز Y در پایان کار تعیین گردید.

یافته ها: در موش های دیابتی و دیابتی تحت تیمار با گیاه ماریتیغال افزایش معنی دار در مورد تأخیر اولیه در مقایسه با گروه کنترل به دست آمد (p=۰/۰۲۱). به علاوه، از نظر تأخیر اولیه هیچ گونه تفاوت معنی دار بین دو گروه دیابتی و دیابتی تحت تیمار مشاهده نگردید. هم چنین، کاهش تأخیر در حین عبور در موش های دیابتی (p=۰/۰۳۲) و افزایش آن (p=۰/۰۲۷) در موش های دیابتی تحت تیمار در پایان کار به خوبی مشاهده گردید. نتایج تست ماز Y نیز نشان داد که درصد تناوب در گروه دیابتی تحت تیمار با گیاه ماریتیغال تفاوت معنی دار با گروه دیابتی نشان نمی دهد.

نتیجه گیری: گیاه ماریتیغال موجب تقویت توانایی نگهداری اطلاعات در حافظه و به یادآوری آن ها در حیوانات دیابتی می گردد ولی در بهبود حافظه ی فضایی تأثیری ندارد.

واژگان کلیدی: سلیبوم ماریانوم، یادگیری، حافظه، آزمون اجتنابی غیرفعال، دیابت شیرین

*دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشیار دانشگاه شاهد و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی

**دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی ایران

***دانشجوی پزشکی، دانشگاه شاهد

مقدمه

بیماری دیابت قندی یکی از شایع‌ترین بیماری‌های سیستم غدد درون‌ریز بدن محسوب می‌شود که بر اساس پیش‌بینی به عمل آمده، شیوع آن در جامعه‌ی انسانی در آینده افزایش خواهد یافت (۱). نوروپاتی یکی از مهم‌ترین مشکلات بالینی و یکی از علل مرگ و میر در بیماران مبتلا به دیابت قندی محسوب می‌گردد (۲). بر اساس 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 (۳). بر اساس شواهد تحقیقاتی موجود، حالت دیابت قندی به ویژه 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 نقایص در یادگیری و حافظه در موجودات آزمایشگاهی یافت می‌شود که البته مکانیسم‌های مسئول بروز این اختلالات به خوبی مشخص نشده است، هرچند برای دو فرضیه‌ی میکروواسکولار و استرس اکسیداتیو ناشی از تشدید تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن شواهد زیادی یافت می‌گردد (۴).

با توجه به افزایش دانش بشری در مورد هتروژنیته این بیماری، نیاز برای یافتن ترکیبات مؤثر با عوارض جانبی کم‌تر در جلوگیری یا درمان دیابت یا مشکلات ناشی از آن احساس می‌گردد. گیاهان دارویی و مشتقات آن‌ها اگرچه از دیرباز در درمان دیابت قندی و عوارض ناشی از آن مطرح بوده‌اند، ولی در مورد اثربخشی قطعی بسیاری از آن‌ها تاکنون شواهد تحقیقاتی و معتبر یافت نمی‌شود (۵). در این ارتباط گیاه ماریتیغال یک گیاه دارویی با خواص ضدسرطان، جمع‌کننده‌ی رادیکال‌های آزاد، محافظت سلول در برابر آسیب‌های شیمیایی شامل سموم محیطی، کاهش دادن پراکسیداسیون لیپیدی و

روش بررسی

در این مطالعه تحقیقاتی از نوع تجربی از 36 عدد موش صحرایی ماده‌ی سفید نژاد ویستار (انستیتو پاستور، تهران) در محدوده‌ی وزنی 11 ± 20.3 گرم استفاده شد. تمام حیوانات در دمای 2 ± 21 درجه‌ی سانتی‌گراد در گروه‌های ۳ تا 4 تایی در هر قفس قرار داده شدند. حیوانات آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای مخصوص موش (شرکت خوراک دام پارس، کرج) و یا غذای مخلوط شده با پودر بخش هوایی ماریتیغال به نسبت مورد نظر (۱/۱۵) به مدت 4 هفته دسترسی داشتند.

برای تهیه‌ی غذای خاص حاوی گیاه، پس از تهیه و تأیید علمی، پودر حاصل از آسیاب نمودن بخش هوایی ماریتیغال با یک نسبت وزنی 6/۲۵ درصد با غذای پودر شده و استاندارد موش مخلوط و مجدداً غذای Pelleted تولید گردید (۱۲). 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 (۱۳). در این خصوص از شبکه‌ی رترواوریتال و لوله‌ی موینه برای خون‌گیری استفاده شد. موش‌ها به طور تصادفی به چهار گروه کنترل، کنترل تحت‌تیمار با ماریتیغال، دیابتی و

دیابتی تحت تیمار با ماریتیغال تقسیم شدند. تیمار با گیاه به مدت 4 هفته ادامه یافت. برای دیابتی نمودن موش‌ها از داروی استرپتوزوتوسین به صورت تک‌دوز و داخل صفاقی به میزان 6۰ 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 4 پس از بررسی به انجام رسید.

آزمون رفتار اجتنابی (احترازی) غیرفعال (Passive avoidance test): برای بررسی رفتار احترازی غیرفعال به عنوان شاخصی از یادگیری و حافظه‌ی حیوان از یک دستگاه به ابعاد ۲۰×۸۰×۲۰ سانتی‌متر (شاتل باکس) دارای یک محفظه‌ی روشن (Safe side) و یک محفظه‌ی تاریک (Unsafe side) استفاده شد. میله‌های فلزی موجود در کف محفظه‌ی تاریک برای شوک دادن به پای حیوان استفاده شد. برای اعمال تحریک به محفظه‌ی تاریک از دستگاه استیمولاتور خاص (بهدودپرداز، تهران) استفاده گردید. به این منظور، تک تحریکی به شدت یک میلی‌آمپر و به مدت دو ثانیه اعمال گردید. در این تحقیق روش بررسی رفتار احترازی غیرفعال پس از بررسی به شرح زیر بود:

۱- مرحله‌ی سازش (Adaptation): در این مرحله هر حیوان برای دو روز متوالی قبل از شروع آزمایش حداقل به مدت 5 دقیقه در داخل دستگاه قرار داده شد.

۲- مرحله‌ی اکتساب (Acquisition): در این مرحله (روز سوم) برای شروع آزمایش حیوان را در محفظه‌ی Safe یا روشن قرار داده و به مدت دو دقیقه این محفظه تاریک نگه‌داشته می‌شد. در این مدت در گیلوتینی ارتباط‌دهنده محفظه‌ی روشن و تاریک کاملاً بسته بود. در انتهای دوره، لامپ محفظه Safe را روشن کرده و در گیلوتینی باز می‌گردید. به محض بازکردن در، کورنومتر را به کار انداخته و

مدت زمانی که طول می‌کشید تا حیوان از محفظه‌ی روشن به محفظه‌ی تاریک برود یادداشت می‌شد که این مدت زمان تحت عنوان تأخیر اولیه (Initial latency [IL]) اطلاق گردید (ملاک برای ورود حیوان به محفظه‌ی تاریک عبور اندام‌های حرکتی پشتی حیوان از در ارتباط‌دهنده دو محفظه بود). سپس در را پایین آورده 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 6۰ ثانیه از آزمایشات حذف گردیدند.

۳- مرحله‌ی آزمایش نگهداری اطلاعات (Retention): این مرحله ۲۴ ساعت پس از مرحله‌ی دوم در روز چهارم انجام پذیرفت. این مرحله مشابه مرحله‌ی قبل بوده که با قراردادن حیوان در محفظه‌ی روشن شروع می‌شد با این تفاوت که زمانی که حیوان به محفظه‌ی تاریک وارد می‌شد هیچ‌گونه شوکی دریافت نمی‌کرد. در این مرحله، تأخیر در حین عبور یا (Step-through latency [STL]) اندازه‌گیری گردید. منظور از STL مدت زمانی است که حیوان در محفظه‌ی روشن باقی می‌ماند قبل از آن که وارد محفظه تاریک شود. افزایش این پارامتر نشان‌دهنده‌ی توانایی بیشتر حیوان برای نگهداری اطلاعات قبلی در مدارهای عصبی مربوط به حافظه می‌باشد.

آزمون ماز Y و اندازه‌گیری رفتار تناوب (Alternation behavior): این آزمون برای بررسی حافظه‌ی فضایی حیوان در سطح ساده مورد استفاده قرار می‌گیرد. در پایان کار ۲ تا ۳ روز قبل از تست رفتار اجتنابی انجام پذیرفت. در این ارتباط میزان عملکرد حیوانات از نظر حافظه‌ی Working از طریق مشاهده و اندازه‌گیری نمودن رفتار تناوب خودبه‌خودی حیوان در یک جلسه‌ی کاری مورد بررسی قرار گرفت. ماز مربوط به این آزمون از جنس پلکسی‌گلاس بود و هر بازو دارای ابعاد ۴۰×۳۰×۱۵ واحد بوده است و بازوها از طریق یک محوطه‌ی مرکزی به هم متصل می‌گردیدند. برای انجام

یافته‌ها

از نظر میزان گلوکز سرم در هفته‌ی ۴ میزان گلوکز سرم در دو گروه دیابتی و دیابتی تحت‌تیمار با ماریتغال در حد معنی‌دار ($p=0/006$) بیشتر از گروه کنترل بود و گروه کنترل تحت‌تیمار تفاوت معنی‌دار را در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد. به علاوه، تیمار با بخش هوایی این گیاه در گروه دیابتی در همین دوره‌ی زمانی هیچ‌گونه کاهش معنی‌دار در میزان گلوکز سرم در مقایسه با گروه دیابتی تیمار نشده به وجود نیاورد.

در موش‌های دیابتی و دیابتی تحت‌تیمار با ماریتغال افزایش معنی‌دار در مورد تأخیر اولیه در مقایسه با گروه کنترل به دست آمد ($p=0/021$). به علاوه، از نظر تأخیر اولیه هیچ‌گونه تفاوت معنی‌دار بین دو گروه دیابتی و دیابتی تحت‌تیمار مشاهده نگردید که خود به مفهوم عدم تغییر توانایی موش‌ها در کسب اطلاعات جدید در موش‌های دیابتی تحت‌تیمار می‌باشد. همچنین، کاهش تأخیر در حین عبور در موش‌های دیابتی ($p=0/032$) و افزایش آن ($p=0/027$) در موش‌های دیابتی تحت‌تیمار در پایان کار به خوبی مشاهده گردید.

از طرف دیگر، تیمار موش‌های گروه کنترل با ماریتغال تغییر معنی‌دار تأخیر در حین عبور را در مقایسه با گروه کنترل به دنبال نداشت (جدول ۱).

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 ثبت می‌گردید. ورود حیوان به داخل یک بازو، زمانی بود که پاهای عقبی حیوان به طور کامل در داخل بازو قرار داده می‌شد. رفتار تناوب به عنوان ورودهای موفق و پشت سرهم (سریال) به داخل تمام بازوها در مجموعه‌های سه‌تایی همپوشانی‌کننده در نظر گرفته شد. به این ترتیب درصد تناوب از نسبت تناوب مشاهده شده به حداکثر تناوب (۲ - تعداد کل بازوهای وارد شده) $\times 100$ محاسبه گردید.

آنالیز آماری: تمام نتایج به غیر از یافته‌های رفتار اجتنابی غیرفعال به صورت میانگین $\pm SE$ بیان شده است. در مورد رفتار اخیر نتایج به صورت میانه و دامنه بین چارکی (Inter-quartile range) بیان شده است. برای داده‌های گلوکز سرم و تست ماز Y، مقایسه‌ی بین گروهی نتایج از آزمون One-way ANOVA و Tukey استفاده شد. به علاوه، از آزمون‌های غیرپارامتریک Kruskal-Wallis و Mann-Whitney برای آنالیز داده‌های تست رفتار اجتنابی غیرفعال استفاده گردید. در تمام بررسی‌ها، $p < 0/05$ به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

جدول ۱: میزان تأخیر اولیه و تأخیر در حین عبور در آزمون اجتنابی غیرفعال در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمار شده با ماریتغال به صورت خوراکی

پس از گذشت ۴ هفته

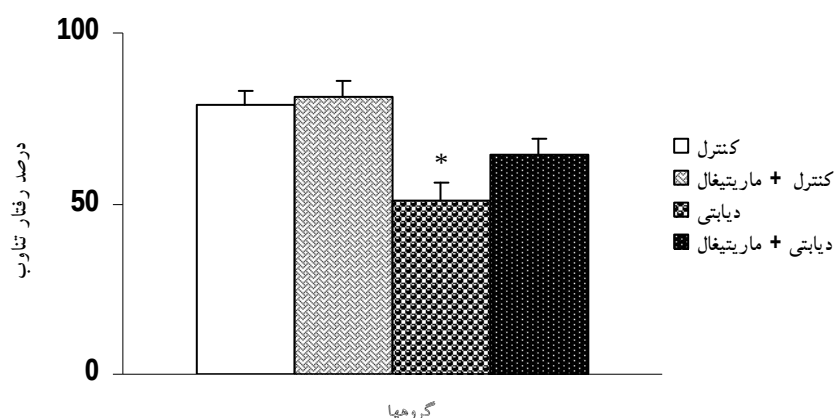
تأخیر اولیه (ثانیه)	تأخیر در حین عبور (ثانیه)
(دامنه بین چارکی - میانه)	(دامنه بین چارکی - میانه)
۱۱/۳ (۸/۹ - ۱۴/۷)	۳۳۳/۴ (۳۱۲/۵ - ۳۳۵/۶)
۷/۸ (۶/۵ - ۹/۴)	۳۷۱/۷ (۳۵۸/۵ - ۳۹۲/۳)
۴۹/۶ (۴۴/۲ - ۵۶/۹)*	۲۶۱/۵ (۲۴۶/۵ - ۲۶۷/۴) *
۴۸/۹ (۴۷/۵ - ۵۴/۷) *	۳۴۲/۵ (۳۳۱/۸ - ۳۴۷/۹) #

* $P < 0/05$ (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 حافظه‌ی فضایی می‌باشد در حیوانات دیابتی به طور معنی‌دار کمتر از گروه کنترل بوده ($p = 0/019$)، درصد تناوب

در گروه دیابتی تحت تیمار با ماریتیغال تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی نشان نداد و تجویز گیاه به گروه کنترل نیز تغییر معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل ایجاد نمود (شکل ۱).



نمودار ۱: میزان درصد تناوب در آزمون ماز Y در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمار شده با ماریتیغال به صورت خوراکی پس از گذشت ۴ هفته. نتایج به صورت میانگین $\pm SE$ بیان شده است. $P < 0/05$ (در مقایسه با گروه کنترل)

بحث

نتایج این بررسی نشان داد که تجویز خوراکی و درازمدت ماریتیغال با یک نسبت وزنی ۶/۲۵ درصد به مدت ۴ هفته در موش‌های گروه‌های کنترل و دیابتی تغییر معنی‌دار در میزان گلوکز سرم ایجاد نمی‌نماید. به علاوه، در موش‌های دیابتی و دیابتی تحت تیمار با ماریتیغال افزایش معنی‌دار در مورد کسب اطلاعات جدید در مقایسه با گروه کنترل به دست آمد و از این نظر هیچ‌گونه تفاوت معنی‌دار بین دو گروه دیابتی و دیابتی تحت تیمار مشاهده نگردید. همچنین، کاهش توانایی نگهداری و به یادآوری اطلاعات در موش‌های دیابتی و افزایش آن در موش‌های دیابتی تحت تیمار در پایان کار به خوبی مشاهده گردید.

بر اساس یافته‌های قبلی، بروز حالت دیابت قندی در موجودات آزمایشگاهی (نظیر موش صحرایی) و جامعه‌ی

انسانی با اختلالاتی در روندهای شناختی و حافظه و یادگیری، آتروفی مغز و افزایش احتمال ابتلا به دمانس همراه می‌باشد (۱۳). هرچند که مکانیسم بروز این اختلالات در جامعه‌ی دیابتی به خوبی شناخته نشده است ولی مشخص شده است که دو ناحیه‌ی قشر مغز و هیپوکامپ که از نواحی اصلی مرتبط با این روندها محسوب می‌شوند به میزان زیاد به دنبال دیابتی شدن تحت تأثیر قرار می‌گیرند (۱۴). در این ارتباط بروز دیابت قندی موجب تشدید استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی در برخی نواحی مغزی شامل هیپوکامپ شده 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 (۱۵-۱۸). در بررسی

طرف دیگر گیاه ماریتیغال موجب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در مدل تجربی هیپرلیپیدمی می‌گردد (۸)، لذا بخشی از اثرات سودمند این گیاه در تحقیق حاضر را می‌توان به کاهش دادن پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو نسبت داد. از طرف دیگر بخشی از اثرات مشاهده شده مصرف این گیاه در بررسی حاضر را می‌توان به درصد بالای فلاونوئیدها با خواص محافظت‌کننده نسبت داد (۹، ۸).

نتیجه‌گیری

مصرف خوراکی و درازمدت ماریتیغال هرچند فاقد اثر هیپوگلیسمیک بارز در موش‌های صحرایی دیابتی می‌باشد، ولی از نظر یادگیری و حافظه در آزمون اجتنابی غیرفعال موجب افزایش بارز توانایی در حفظ و به یادآوری اطلاعات انبار شده در حیوانات دیابتی شده می‌گردد.

تقدیر و تشکر

بخشی از بودجه‌ی تحقیقاتی پژوهش حاضر از محل اعتبار پژوهشی معاونت پژوهشی دانشگاه شاهد (تهران، ۱۳۸۵) تأمین شده است که به این وسیله تشکر می‌گردد. ضمناً نویسندگان مقاله مراتب تشکر وافر خود را از خانم فریبا انصاری کارشناس گروه فیزیولوژی دانشکده‌ی پزشکی شاهد در تهیه‌ی مواد و وسایل پژوهش و کمک به انجام آزمایشات اعلام می‌دارند.

حاضر مشخص شد که وجود حالت دیابتی به مدت ۴ هفته موجب افزایش تأخیر اولیه در موش‌های دیابتی می‌شود که این تا حدود کم دلیل بر افزایش توانایی حیوان در کسب اطلاعات و مهارت‌های جدید و تا حدود زیاد معرف کاهش تحرک حیوان می‌باشد که این با نتایج تحقیق بایداس و همکاران مطابقت دارد، هرچند که مدت بررسی محققان اخیر کم‌تر از بررسی حاضر بوده است. به علاوه، محققان اخیر کاهش توانایی حیوانات دیابتی را در ارتباط با تثبیت و به یادآوری اطلاعات انبار شده پس از یک ماه گزارش نموده‌اند (۴) که همین نتیجه در بررسی حاضر نیز به دست آمد. بر اساس شواهد موجود، تغییرات حاصله در این توانایی‌ها را می‌توان به تغییرات پلاستیسیته سیناپسی در ناحیه‌ی هیپوکامپ و در نتیجه‌ی ایجاد اختلال در روند [Long term Potentiation (LTP)] نسبت داد (۱۷).

به علاوه، در بررسی حاضر اثر سودمند مصرف خوراکی و مزمن ماریتیغال بر یادگیری و حافظه از نظر کسب اطلاعات جدید و حفظ و به یادآوری اطلاعات انبار شده در حیوانات دیابتی پس از ۴ هفته مورد تأیید قرار گرفت. در این رابطه 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 به خصوص در دو ناحیه‌ی هیپوکامپ و قشر مغز که خود از نواحی اصلی یادگیری و حافظه محسوب می‌گردند، می‌شود (۱۳) و از

منابع

- 1- Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes mellitus: complications and therapeutics. *Med Sci Monit.* 2006; 12(7): 130-47.
- 2- Galer BS, Gianas A, Jensen MP. Painful diabetic polyneuropathy: epidemiology, pain description, and quality of life. *Diabetes Res Clin Pract.* 2000; 47(2): 123-8.

- 3- 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.
- 4- 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(15): 1907-16.
- 5- Jung M, Park M, Lee HC, Kang YH, Kang ES, Kim SK. Antidiabetic agents from medicinal plants. *Curr Med Chem.* 2006; 13(10): 1203-18.
- 6- Samigullina LI, Lazareva DN. New prospects of using milk thistle (*Silybum marianum*) preparations. *Eksp Klin Farmakol.* 2004; 67(4): 77-80.
- 7- Ladas EJ, Kelly KM. Milk thistle: is there a role for its use as an adjunct therapy in patients with cancer? *J Altern Complement Med.* 2003; 9(3): 411-6.
- 8- Skottova N, Kazdova L, Oliarnyk O, Vecera R, Sobolova L, Ulrichova J. Phenolics-rich extracts from *Silybum marianum* and *Prunella vulgaris* reduce a high-sucrose diet induced oxidative stress in hereditary hypertriglyceridemic rats. *Pharmacol Res.* 2004; 50(2): 123-30.
- 9- Sobolova L, Skottova N, Vecera R, Urbanek K. Effect of silymarin and its polyphenolic fraction on cholesterol absorption in rats. *Pharmacol Res.* 2006; 53(2): 104-12.
- 10- Neese S, La Grange L, Trujillo E, Romero D. The effects of ethanol and silymarin treatment during gestation on spatial working memory. *BMC Complement Altern Med.* 2004; 4: 4.
- 11- Reid C, Edwards J, Wang M, Manybeads Y, Mike L, Martinez N, et al. Prevention by a silymarin/phospholipid compound of ethanol-induced social learning deficits in rats. *Planta Med.* 1999; 65: 421-4.
- 12- Swanston-Flatt SK, Day C, Bailey CJ, Flatt PR. Evaluation of traditional plant treatments for diabetes: studies in streptozotocin diabetic mice. *Acta Diabetologica Latina.* 1989; 26(1): 51-55.
- 13- 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(5): 695-701.
- 14- Mayer G, Nitsch R, Hoyer S. Effects of changes in peripheral and cerebral glucose metabolism on locomotor activity, learning and memory in adult male rats. *Brain Res.* 1990; 532: 95-100.
- 15- 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(4): 512-523.

-
- 16- Biessels GJ, ter Laak MP, Kamal A, Gispen WH. Effects of the Ca^{2+} antagonist nimodipine on functional deficits in the peripheral and central nervous system of streptozotocin-diabetic rats. *Brain Res.* 2005; 1035(1): 86-93.
- 17- 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.
- 18- Sima AA, Li ZG. The effect of C-peptide on cognitive dysfunction and hippocampal apoptosis in type 1 diabetic rats. *Diabetes.* 2005; 54(5): 1497-505.

The Effect of Prolonged Oral Administration of *Silybum Marianum* (SM) Shoots on Learning and Memory in Streptozotocin induced-Diabetic Rats.

Roghani M, Baluchnejadmojarad T, Fallah-Mohammadi M

Corresponding Author's Address: Department of Physiology, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran.

Email: mehjour@yahoo.com

Background and Objective: Diabetes mellitus (DM) especially type A, is accompanied by disturbances in learning, memory, and cognitive skills in human society and experimental animals. Regarding the beneficial effect of SM on lipid peroxidation in hyperlipidemia and on serum lipids in DM, this study was conducted to evaluate the effect of prolonged oral administration of SM on learning and memory in diabetic rats.

Materials and Methods: Female wistar rats (n = 36) were randomly divided into control, SM-treated control, diabetic, and SM-treated diabetic groups. Treatment groups received a mixture of SM and standard rat food at a weight ratio of 6.25% for 4 weeks. To induce diabetes, streptozotocin was injected intraperitoneally at a single dose of 60 mg/kg. For evaluation of learning and memory, initial latency (IL) and step-through latency (STL) were determined at the end of the study using passive avoidance test. Meanwhile, alternation behavior percentage was determined using Y maze test.

Results: There was a significant increase ($p = 0.032$) in IL in diabetic and SM-treated diabetic groups after 4 weeks compared to control group. There was no significant difference between diabetic and SM-treated diabetic groups. On the other hand, STL decreased significantly ($p = 0.032$) in diabetic group while it increased significantly ($p = 0.027$) in SM-treated group compared to control group at the end of the study. The results of Y maze showed that alternation score was not different between treated and untreated diabetic groups.

Conclusion: SM could enhance the consolidation and recall capability of stored information but did not affect spatial memory of diabetic animals.

Key words: *Silybum marianum*, Learning, Memory, Passive avoidance Test, Diabetes mellitus.