● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ بیست‌ویکم، شمارهٔ ۶، ص ۵۶۱-۵۵۱، ۱۳۹۳

مقالهٔ پژوهشی

بررسی تأثیر عصاره دانه کدو بر روند یادگیری و حافظه فضایی موش صحرایی نر بالغ در ماز بارنز (Barnes maze)

زهرا تمدن‌فرد[1*]، لیلی سپهرآرا[2]، حبیب‌الله جوهری[3]

خلاصه

مقدمه: حافظه و نقش کلیدی آن در یادگیری از دیرباز مورد توجه انسان‌ها قرار داشته است؛ به‌طوری‌که آن‌ها همواره در پی راه‌هایی بوده‌اند که باعث تقویت حافظه شود و از کاهش و نقص آن جلوگیری کند. در تحقیق حاضر، اثر عصاره هیدروالکلی دانه کدو بر یادگیری و حافظه موش صحرایی نر بالغ مورد بررسی قرار گرفت.

روش: برای این منظور موش‌های صحرایی نر بالغ با محدوده وزنی ۲۲۰-۱۸۰ گرم به ۷ گروه هشت‌تایی تقسیم شدند و در قالب گروه‌های شاهد، شم (گروه‌های شاهد و شم آب و غذای معمولی در اختیار داشتند، فقط گروه شاهد یک هفته مانده به انجام آزمایش از آب مقطر به‌صورت گاواژ استفاده کرد) و تجربی قرار گرفتند. گروه‌های تجربی روزانه دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره هیدروالکلی دانه کدو را به‌مدت ۱۷ روز دریافت کردند و پس از گذشت ۱۲ روز از دریافت عصاره، آموزش شروع شد. عمل تجویز عصاره نیز هم‌زمان با آموزش انجام گردید و در روز ۱۸ بدون تجویز عصاره، تست حافظه از حیوانات گرفته شد.

یافته‌ها: حافظه فضایی در گروه‌های دریافت کننده عصاره به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < ۰/۰۵$) و این افزایش نسبت به گروه شاهد و شم به‌صورت وابسته به دوز عمل کرد.

نتیجه‌گیری: تجویز عصاره هیدروالکلی دانه کدو به‌دلیل داشتن اسیدهای چرب امگا (اسید اولئیک و لینولئیک اسید) و ویتامین E و D باعث افزایش حافظه فضایی و یادگیری می‌شود.

واژه‌های کلیدی: ماز بارنز، حافظه فضایی، یادگیری، اولئیک اسید، لینولئیک اسید

۱- کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، جهرم، ایران ۲- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، کازرون، ایران ۳- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد داراب، داراب، ایران

* **نویسنده مسؤول، آدرس پست الکترونیک:** zahratamadon391@yahoo.com

دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۴/۱ **دریافت مقاله اصلاح شده:** ۱۳۹۲/۹/۳۰ **پذیرش مقاله:** ۱۳۹۲/۱۱/۲

مقدمه

ارزش گیاهان دارویی از دیرباز برای انسان اثبات شده بود و برای درمان بیماری‌ها از این گیاهان استفاده می‌کرد. از جمله گیاهان دارویی مورد استفاده، دانه کدو می‌باشد. کدو با نام علمی Cucurbita pepo، گیاهی است که از گذشته مورد توجه بشر بوده است. کدوی تخم کاغذی از اهمیت فراوانی در صنایع دارویی برخوردار است و در طب سنتی بسیاری از کشورها از جمله چین، یوگسلاوی، آرژانتین، هند، مکزیک، برزیل و آمریکا مورد استفاده قرار می‌گیرد (۳-۱). دانه کدو گیاه یک ساله‌ای متعلق به تیره کدوییان است که مانند تاک با بوته‌های کوچک به‌همراه برگ‌های پردار و خاردار رشد می‌کند. گل‌های بزرگ و پر زرق و برق آن توسط حشرات و به‌طور عمده زنبورها گرده‌افشانی می‌شود (۴).

از زمان‌های دور برای درمان بیماری‌های حاد و مزمن از جمله تورم پروستات و سوزش‌های مداوم ادراری از این گیاه استفاده می‌شد. مصرف دانه‌های این گیاه سبب افزایش مقاومت بدن در مقابل عوامل بیماری‌زا می‌شود. دانه‌های این گیاه حاوی اسیدهای چرب (شامل لینولئیک اسید، اولئیک اسید، پالمتیک اسید و استئاریک اسید) و همچنین ترکیبات فنولی می‌باشد (۵). دانه‌های کدو منبع غنی از پتاسیم، فسفر، منیزیم، کلسیم، سدیم، منگنز، آهن، روی و مس است که امکان استفاده بالقوه از آن‌ها را در غنی‌سازی مواد غذایی در آینده فراهم می‌آورد (۶).

متداول‌ترین اسیدهای چربی که در ترکیب با گلیسرول در روغن نباتی یافت می‌شود شامل اولئیک اسید، لینولئیک و لینولنیک است که به‌ترتیب یک، دو و سه پیوند دوگانه دارند و هر کدام دارای ۱۸ اتم کربن می‌باشند (۷). تا به حال آثار فارمالوژیک (دارویی) زیادی از قبیل آنتی‌اکسیدانی، پایین آورنده فشار خون، ضد سنگ مثانه و ضد دیابت در مورد گونه‌های مختلف دانه کدو گزارش شده است (۸).

تاکنون گروه‌های مختلف تحقیقاتی به معرفی مکانیسم طبیعی یادگیری و تشکیل حافظه در سیستم عصبی مرکزی پستانداران پرداخته‌اند. دانشمندان در اواخر قرن نوزدهم میلادی می‌دانستند که هم‌زمان با پیشرفت سن، بر تعداد نورون‌های مغز بالغ (در حدود ۱۰۰ بیلیون نورون) افزوده نمی‌شود (۹). به‌همین دلیل طبق عقیده بیشتر متخصصان علوم اعصاب، تشکیل حافظه نمی‌تواند ناشی از تولید نورون جدید در مغز پستانداران باشد. از این‌رو و با وجود این‌که بیش از سه دهه از معرفی پدیده تقویت درازمدت به دنیای علم می‌گذرد، اما باز هم درصدد یافتن دلیل منطقی در جهت علت تشکیل حافظه هستند (۱۰، ۹).

با وجود مطالعات زیادی که در مورد تأثیر شفابخش دانه‌های کدو انجام شده است، با این حال تاکنون در زمینه تأثیر آن بر روی حافظه و یادگیری تحقیقی صورت نگرفته است؛ بنابراین هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات عصاره دانه‌های این گیاه بر روی یادگیری و حافظه فضایی با استفاده از ماز بارنز (Barnes maze) بود.

روش بررسی

در این مطالعه آزمایشگاهی همه اصول اخلاقی در مورد نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی مدنظر قرار گرفت. حیوانات مورد مطالعه شامل ۵۶ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۲۰-۱۸۰ گرم بود که از مرکز پرورش حیوانات دانشگاه کازرون تهیه گردید. تمام حیوانات در خانه و در شرایط ۱۲ ساعت نور، ۱۲ ساعت تاریکی و دمای ثابت ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. همچنین به‌صورت آزادانه به آب و غذای کافی دسترسی داشتند.

جهت حصول سازگاری حیوانات با شرایط، تمام آزمایش‌ها پس از گذشت دو هفته از استقرار آن‌ها در خانه حیوانات دانشگاه کازرون انجام شد. حیوانات به ۷ گروه هشت‌تایی تقسیم شدند. گروه شم و شاهد که آب و غذای معمولی در اختیار داشتند، فقط برای گروه شاهد از آب مقطر به‌صورت گاواژ یک هفته مانده به انجام آزمایش جهت هماهنگی با گروه‌های تجربی استفاده شد و گروه‌های تجربی که به میزان ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰

میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره هیدروالکلی دانه کدو به‌صورت گاواژ به‌مدت ۱۷ روز دریافت کردند. حیوانات ۱۲ روز پس از دریافت عصاره به‌مدت ۵ روز و هر روز چهار بار تحت آموزش قرار گرفتند.

تهیه عصاره هیدروالکلی دانه کدو

مقدار ۲ کیلوگرم دانه کدو جهت تهیه عصاره مورد استفاده قرار گرفت. به‌همین منظور دانه‌ها توسط دستگاه آسیاب برقی خرد شد و پودر به‌دست آمده جهت تهیه عصاره استفاده شد. پودر حاصل در محلول آب و الکل (اتانول ۸۰ درصد) به‌مدت ۷۲ ساعت خیسانده، سپس صاف گردید و برای اطمینان از عدم وجود ذرات معلق، سانتریفوژ بر روی آن صورت گرفت. پس از رسوب‌گذاری، رسوب دور ریخته شد و محلول بالایی در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا تغلیظ گردد (۱۱).

نحوه آموزش و روش ارزیابی حافظه فضایی با استفاده از ماز بارنز (Barnes maze)

ارزیابی حافظه در این مدل با استفاده از یک میز گرد که ۱۸ سوراخ فرار در اطراف محیط آن تعبیه گردیده بود، انجام شد. جهت تشویق حیوان برای یافتن سوراخ، هدف روشنایی در فاصله ۱۰۰ سانتی‌متری سطح میز قرار داده شد. به‌منظور کمک به‌جهت‌یابی حیوان در طی آزمایش، نشانه‌های بصری در اطراف ماز نصب گردید (شکل ۱).

شکل ۱. *ماز بارنز*

موش‌های هر گروه پس از انجام عمل عصاره‌دهی و به‌منظور آشنایی با ماز بارنز به‌مدت یک ساعت بر روی سطح ماز قرار داده شدند. در این زمان جعبه هدف در ماز قرار نداشت و حیوانات اجازه داشتند آزادانه در سطح آن حرکت کنند. سپس حیوانات به جعبه باز انتقال یافتند و پس از گذشت ۲۰ دقیقه، هر موش جداگانه به سطح ماز آورده شد و جعبه‌ای به‌مدت ۱۰ ثانیه بر روی آن قرار گرفت. پس از آن لامپ بالای میز روشن گردید و جعبه توسط دستگاه کشنده از روی حیوان برداشته شد. حیوان به‌مدت ۹۰ ثانیه اجازه داشت که سوراخ هدف را بیابد. پس از یافتن سوراخ هدف، چراغ خاموش شد و سوراخ توسط

یک صفحه تیره پوشانده شد و حیوان اجازه پیدا کرد به‌مدت ۶۰ ثانیه در آن‌جا استراحت کند.

اگر حیوان در اولین بار آموزش و پس از گذشتن ۹۰ ثانیه نمی‌توانست سوراخ هدف را پیدا کند، توسط محقق به سمت سوراخ راهنمایی می‌شد. به‌منظور جلوگیری از ردیابی سیگنال‌های بویایی، تمام سطح میز پس از هر بار آموزش توسط الکل تمیز می‌گردید. شاخص‌های ارزیابی شده در این بررسی، مدت زمان تأخیر در یافتن سوراخ هدف و تعداد خطا (Error) از مدت زمانی که جعبه از روی حیوان برداشته می‌شود تا مدت زمانی که حیوان سوراخ را لمس کند، ثبت می‌شد. بررسی کردن سوراخ‌های اشتباه توسط حیوان به‌عنوان خطا محسوب شد.

آموزش‌ها در ۵ روز متوالی هر روز ۴ بار انجام شد و در روز ششم سنجش به‌خاطرآوری انجام گرفت. تمام آموزش‌ها توسط دوربین فیلم‌برداری ضبط و بر روی کامپیوتر ذخیره گردید.

نتایج

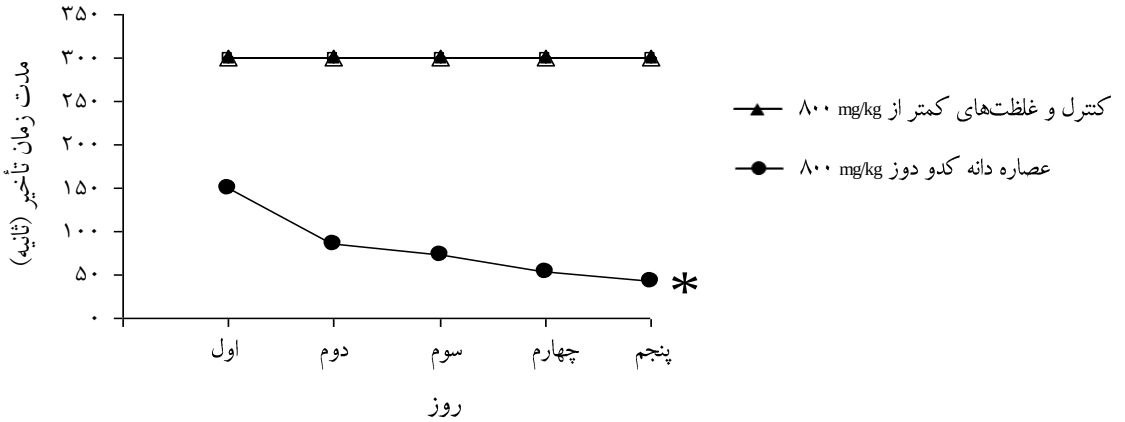
تحلیل آماری داده‌ها

به‌منظور تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS نسخه سوم استفاده شد. جهت تعیین اثر تیمار بر روی گروه‌ها از آزمون آماری ANOVA یک طرفه و برای تفاوت بین گروه‌ها از آزمون Tukey استفاده گردید. بیان داده‌ها به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بود و سطح معنی‌داری $P < ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

به‌منظور بررسی یادگیری و حافظه حیوان در ماز بارنز دو عامل مدت زمان رسیدن به‌هدف و تعداد خطا در رسیدن به‌هدف به‌عنوان متغیرهای حایز اهمیت مورد ارزیابی قرار گرفت.

اثر عصاره هیدروالکلی دانه کدو در مدت زمان تأخیری برای رسیدن به‌هدف طی روزهای آموزش

بین گروه‌های شم و شاهد و گروه‌های تجربی دریافت کننده عصاره با دوز ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و مدت زمان تأخیری در رسیدن به‌هدف تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، در حالی که تفاوت معنی‌داری بین گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با گروه‌های شم، شاهد و دیگر گروه‌های تجربی دریافت کننده وجود داشت [مدت زمان تأخیری در رسیدن به‌هدف در گروه دریافت کننده دوز ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه‌های شم، شاهد و تجربی کاهش یافت و تفاوت معنی‌داری نسبت به گروه‌های دیگر مشاهده شد ($P < ۰/۰۵$)] (نمودار ۱).



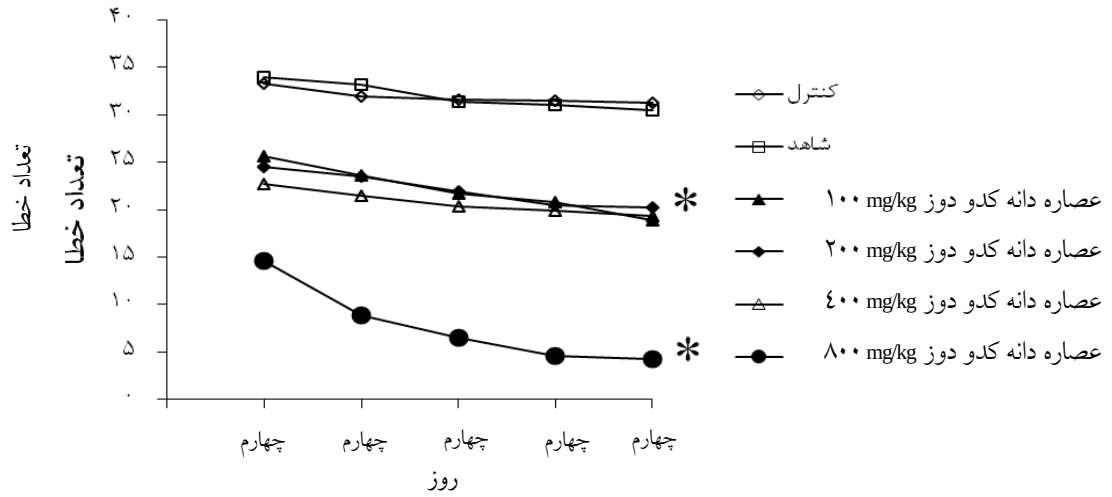
نمودار ۱. *اثر تجویز خوراکی عصاره هیدروالکلی دانه کدو بر مدت زمان تأخیر در روزهای آموزش*

تعداد موش‌ها در هر گروه ۸ سر بود.

*: $P<۰/۰۵$

اثر عصاره هیدروالکلی دانه کدو بر تعداد خطاها در یافتن سوراخ هدف طی روزهای آموزش

در طی روزهای آموزش تعداد خطا در گروه های تجربی نسبت به گروه‌های شم و شاهد کاهش یافت که این کاهش در گروه‌های دریافت کننده دوزهای بیشینه به صورت معنی‌دار بود. بین گروه‌های شم و شاهد با گروه‌های تجربی دریافت کننده دوز ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (بدین معنی که تعداد خطا در رسیدن به‌هدف کاهش یافت). همچنین بین گروه دریافت کننده دوز ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم با گروه‌های شم و شاهد تفاوت معنی‌داری وجود داشت. از لحاظ تعداد خطا در رسیدن به‌هدف، گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی‌داری را با گروه‌های تجربی دریافت کننده عصاره با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نشان داد (تعداد خطا کاهش یافت) ($P < ۰/۰۵$). این تفاوت‌ها (کاهش تعداد خطا) به‌صورت وابسته به دوز عمل کرد (نمودار ۲).



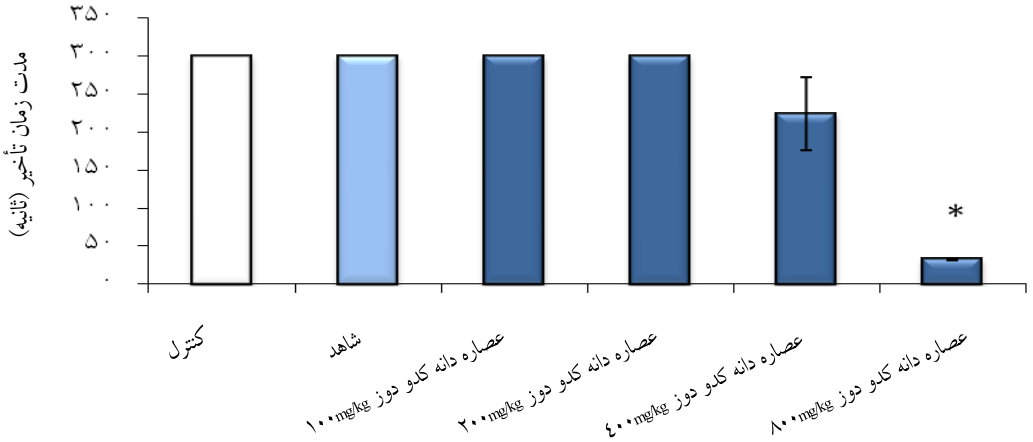
نمودار ۲. *اثر عصاره هیدروالکلی دانه کدو بر تعداد خطاها طی روزهای آموزش*

تعداد موش در هر گروه ۸ سر بود.

*: $P<۰/۰۵$

اثر عصاره هیدروالکلی دانه کدو در مدت زمان تأخیری برای رسیدن به‌هدف در روز آزمون

بین گروه‌های شم، شاهد و گروه‌های تجربی دریافت کننده دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد؛ در حالی که بین گروه دریافت کننده عصاره در دوز ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و گروه شم، شاهد و گروه‌های تجربی دریافت کننده دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تفاوت معنی‌داری وجود داشت [در مدت زمان تأخیری برای رسیدن به‌هدف بین گروه دوز ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به تمام گروه‌ها کاهش معنی‌داری مشاهده شد که این کاهش در گروه‌های تجربی به‌صورت وابسته به دوز عمل کرد ($P < ۰/۰۵$)] (نمودار ۳).

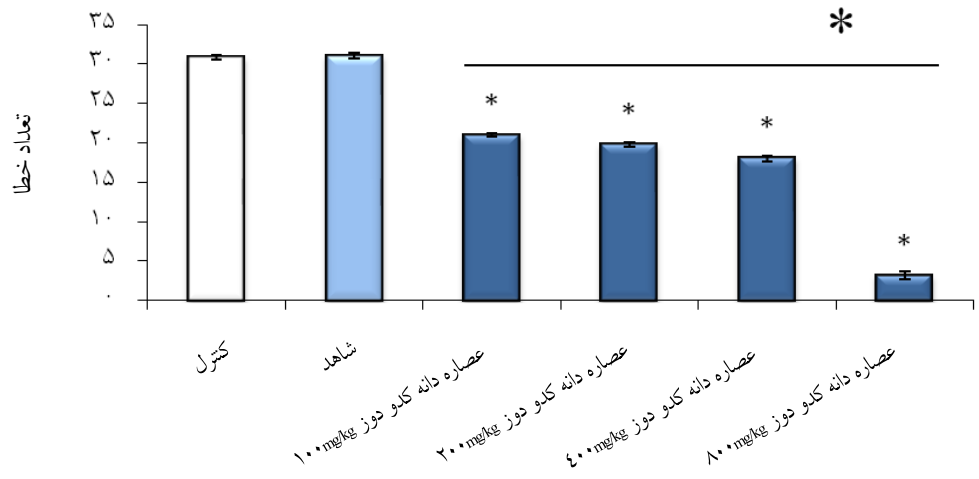


نمودار ۳. *اثر تجویز خوراکی عصاره هیدروالکلی دانه کدو بر مدت زمان تأخیر در روز آزمون*

تعداد موش‌در هر گروه ۸ سر بود.

*: P<۰/۰۵

اثر تجویز خوراکی عصاره هیدروالکلی دانه کدو بر تعداد خطا در روز آزمون در گروه‌های تجربی دریافت‌کننده عصاره با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نشان از کاهش معنی‌دار تعداد خطا در رسیدن به هدف بود. بین گروه دریافت کننده عصاره با دوز ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و گروه‌های شم، شاهد و تجربی دریافت کننده عصاره با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش معنی‌داری در تعداد خطا مشاهده شد [تعداد خطا در رسیدن به‌هدف در گروه تجربی با دوز ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به تمام گروه‌ها کاهش معنی‌داری داشت ($P < ۰/۰۵$)]. کاهش در گروه‌های تجربی به‌صورت وابسته به دوز عمل نمود (نمودار ۴).



نمودار ٤. *اثر تجویز خوراکی عصاره هیدروالکلی دانه کدو بر تعداد خطاها در روز آزمون*

تعداد موش در هر گروه ۸ سر بود

*: P<۰/۰۵

بحث

با توجه به تغییرات و تبدیلات اسیدهای چرب در بدن، محققین پژوهش‌های متفاوتی انجام داده و اثرات اسیدهای چرب بر یادگیری را بررسی نموده‌اند. بنابراین در تحقیق حاضر با توجه به کاهش مدت زمان تأخیری برای رسیدن به‌هدف (نمودارهای ۱ و ۳) و کاهش تعداد خطا (نمودارهای ۲ و ۴)، می‌توان گفت که افزایش یادگیری به جهت وجود ترکیباتی مانند اسیدهای چرب امگا در عصاره هیدروالکلی دانه کدو می‌باشد که احتمال دارد با شرکت در ساختار غشای سلول به‌طور مستقیم در اعمال غشاهای مغزی شرکت کند.

مطالعات نشان داده است که دانه کدو به‌دلیل دارا بودن ترکیباتی از جمله اسیدهای چرب (لینولیئک اسید و اولئیک اسید) و ویتامین D و E (الفا توکوفرول) بر یادگیری تأثیر دارد. همچنین مشخص شده است که مواد معدنی و بسیاری از ویتامین‌ها به‌ویژه ویتامین D بر یادگیری و حافظه تأثیرگذار است (۱۲). میزان بالای اسید لینولئیک از جمله ویژگی‌های مهم تغذیه‌ای دانه کدو است. اسید لینولئیک نوعی اسید چرب ضروری برای انسان و ترکیب ضروری در تشکیل غشاهای سلولی، ویتامین D و هورمون‌های مختلف است (۱۳).

اثرات مستقیم و غیرمستقیم ویتامین D در عملکرد مغز عمدتاً بر دو پایه استوار است، یکی نقش در کارکرد مدارهای نورونی در مغز و دیگری حفاظت از مغز در برابر آسیب‌های وارده است (۱۴). مطالعات انجام شده به‌وسیله محققین در مورد اثرات ویتامین D بر سیستم عصبی حاکی از آن است که این ویتامین نقش تعیین‌کننده‌ای در پدیده‌های شناختی ایفا می‌کند (۱۵).

علاوه بر این، مطالعات دیگر نشان داده‌اند که تعداد گیرنده‌های انسولینی در غشای سلول‌های مغزی به واسطه اسیدهای چرب با زنجیره طولانی افزایش می‌یابد. این باور وجود دارد که گیرنده‌های انسولینی مغز در عملکردهای شناختی مثل حافظه و یادگیری نقش دارد (۱۶). در واقع اسیدهای چرب غیر اشباع از طریق نگهداری میزان گیرنده های انسولینی مغز، فعالیت‌های شناختی را کنترل می‌کند (۱۷). به‌نظر می‌رسد اسید اولئیک مکانیسم‌های مولکولی ذکر شده در سلول عصبی به‌خصوص در ناحیه هیپوکامپ را بهبود می‌بخشد و بر فرایند یادگیری اثر می‌گذارد (۱۸).

اسیدهای چرب امگا ۳ باعث افزایش حافظه و عملکرد مغز می شود. این چربی‌ها به حمایت مغز در مقابل التهاب کمک می‌کند. همچنین روغن کنجد حاوی لسیتین (۱ درصد) و ویتامین E (توکوفرول) به میزان ۷۰۰-۵۰۰ گرم بر کیلوگرم می‌باشد. وجود توکوفرول‌های روغن کنجد نوعی سد دفاعی در برابر آسیب ناشی از رادیکال های آزاد اسیدهای چرب غیر اشباع روغن کنجد ایجاد می‌کند (۱۸). روغن کنجد به‌علت داشتن آنتی‌اکسیدان‌هایی از قبیل ویتامین E باعث افزایش یادگیری می‌گردد (۱۹).

توکوفرول‌ها عمده‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های لیپوفیل در دانه کدوی تخم کاغذی و روغن حاصل از آن می‌باشند. دانه‌های این گیاه حاوی مقادیر قابل ملاحظه‌ای مشتقات ویتامین E شامل توکوفرول‌ها و توکوتری انول‌ها است. عمده‌ترین ایزومر هر دو ترکول، ایزومرهای گاما و آلفا و مقادیر توکوفرول‌ها ۵ تا ۸ برابر توکوتری انول‌ها می‌باشد که این ترکیبات از بروز سرطان جلوگیری می‌کند (۲۰).

وجود اسیدهای چرب غیر اشباع در این روغن باعث افزایش تعداد خارهای دندریتی، انشعابات سیناپسی و تعداد سیناپس‌های نورونی می‌شود (۲۱). Tanaka و Nishizaki گزارش کردند که اسیدهای چرب غیر اشباع مانند اسید آراشیدونیک، اسید اولئیک و اسید لینولئیک فعالیت گیرنده‌های نیکوتینی استیل کولین در هیپوکامپ را از طریق پروتئین کیناز C در نورون پیش‌سیناپسی افزایش می‌دهد. گیرنده‌های نیکوتینی استیل کولین نیز آزادسازی نوروترانسمیتر گلوتامات را افزایش می‌دهد؛ بنابراین افزایش

گلوتامات باعث تسهیل طولانی مدت (Long-lasting facilitation) انتقال سیناپسی در هیپوکامپ می‌شود (۲۱).

در تسهیل طولانی مدت یک مدل سلولی یادگیری ، حافظه مشابه تقویت طولانی مدت می‌باشد. وجود اسید اولئیک در رژیم غذایی ضروری است؛ چرا که وجود این ماده می‌تواند بر انتقال سیگنال‌ها از طریق فعال کردن پروتئین کیناز C و فسفریلاسیون پروتئین‌ها در هیپوکامپ مؤثر باشد. همچنین اسید اولئیک تعدیل کننده اثرات متقابل بین گیرنده بنزودیازپین‌ها و گاما آمینوبوتریک اسید (یک میانجی عصبی مهاری اصلی در دستگاه عصبی مهره‌داران)، تعدیل کننده اثرات سمی روی نوروبلاست‌ها و تحریک کننده در تکثیر سلول‌های شوان (Schwann) است (۲۲).

با توجه به این که روغن ذرت نیز حاوی مقادیر بالایی از اسیدهای چرب غیر اشباع به‌ویژه اسید لینولئیک و اسید اولئیک می‌باشد، احتمال دارد بهبود یادگیری ناشی از تجویز این روغن مربوط به ترکیبات اسیدهای چرب غیر اشباع باشد. مطالعات نشان داده است که اسید اولئیک در آبشار پیام‌آوران ثانویه نقش دارد. مکانیسم‌های احتمالی تأثیر اسید اولئیک بر سیستم عصبی به تازگی مورد بررسی قرار گرفته است. مطالعات بیوشیمیایی ثابت کرده‌اند که فعالیت پروتئین کیناز C به واسطه اسیدهای چرب و متعاقب آن فسفریلاسیون و دوباره‌سازی اتصالات شکاف‌دار است. همچنین مطالعات در شرایط آزمایشگاهی گزارش کردند که اسید اولئیک می‌تواند رشد سریع آکسونی و خوشه‌های نورونی را افزایش دهد. تحریک رشد سریع آکسونی همراه با فعالیت و مشارکت اتصالات شکاف‌دار به واسطه یک مکانیسم وابسته به پروتئین کیناز C می‌باشد. بر اساس مطالعات آزمایشگاهی، اسید اولئیک در ایجاد فسفولیپیدهای نورون در زمان رشد سریع خوشه‌های نورونی نقش دارد (۲۳).

اسید اولئیک و آراشیدونیک اسید زیرواحد

بتا و زیرواحدهای ناشناخته دیگر، پروتئین کیناز را فعال می‌کنند و پس از آن، فسفریلاسیون پروتئین اتصال شکاف‌دار توسط پروتئین کیناز C صورت می‌گیرد. در نهایت اتصالات شکاف‌دار در روند بازسازی سلول‌های عصبی درگیر می‌گردد. تجمع و فعالیت اتصال شکاف‌دار در رشد نورونی اشاره بر این دارد که اسید اولئیک می‌تواند به‌عنوان یک عامل نوروتروفیک عمل کند (۲۳).

تعداد گیرنده‌های انسولینی در غشای سلول‌های مغزی به واسطه اسیدهای چرب با زنجیره طولانی افزایش می‌یابد. این باور وجود دارد که گیرنده‌های انسولینی مغز در عملکردهای شناختی مثل حافظه و یادگیری نقش دارد (۱۷). در واقع اسیدهای چرب غیر اشباع از طریق نگهداری میزان گیرنده‌های انسولینی مغز، فعالیت‌های شناختی را کنترل می‌کنند (۱۸).

روغن کنجد حاوی ۴۳ درصد اسید لینولئیک می‌باشد. این اسید با کاهش کلسترول و تغییر در سیالیت غشا به‌ویژه در نواحی هیپوکامپی که از نواحی مهم شرکت کننده در فرایند یادگیری فضایی است، می‌تواند یادگیری را تعدیل کند (۱۷).

احتمال دارد اسیدهای چرب غیر اشباع و لسیتین موجود در روغن کنجد با کاهش کلسترول باعث تغییر در سیالیت غشا به‌ویژه در نواحی هیپوکامپی شود و در نتیجه باعث افزایش یادگیری گردد. همچنین لسیتین موجود در روغن کنجد به‌عنوان پیش‌ساز استیل کولین از طریق افزایش عملکرد کولینرژیک باعث افزایش یادگیری می گردد. بنابراین به‌نظر می‌رسد روغن کنجد (با میزان بالای اسیدهای چرب غیر اشباع) و لسیتین در درمان فراموشی حاصل از بیماری آلزایمر که از بیماری‌های سنین پیری است، مؤثر باشد (۱۷).

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که تجویز عصاره هیدروالکلی دانه کدو به‌دلیل داشتن اسیدهای چرب غیر اشباع (اسید اولئیک و لینولئیک اسید) و ویتامین‌های D و E بر بهبود فرایند حافظه و یادگیری اثرگذار است.

سپاسگزاری

پژوهش حاضر در قالب پایان‌نامه کارشناسی ارشد زیست‌شناسی جانوری ارایه گردید. از کارکنان آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه کازرون و استادان دانشگاه آزاد واحد جهرم و کازرون تقدیر و تشکر به‌عمل می‌آید.

References

1. Whitaker TW, Cutler HC. Pre-historic cucurbits from the Valley of Oaxaca. *Economic Botany* 1971; 25(2): 123-7.

2. Bates DM, Robinson RW, Jeffrey C. Biology and utilization of the cucurbitaceae. New York, NY: Cornell University Press; 1990. p. 96-101.

3. Nee M. The domestication ofcucurbita (Cucurbitaceae). *Economic Botany* 1990; 44(Suppl 3): 56-68.

4. Ghasemi Dehkordi N. Iranian herbal pharmacopoeia (IHP). Tehran, Iran: Ministry of Health and Medical Education 2002. p. 615. [In Persian].

5. Caili F, Huan S, Quanhong L. A review on pharmacological activities and utilization technologies of pumpkin. *Plant Foods Hum Nutr* 2006; 61(2): 73-80.

6. Kreft I, Stibilj V, Trkov Z. Iodine and selenium contents in pumpkin (Cucurbita pepo L.) oil and oil-cake. *European Food Research and Technology* 2002; 215(4): 279-81.

7. Goli A, Malek R. Food technology. Tehran, Iran: Nashre Daneshgahi Publication; 1990. p. 158.[In Persian].

8. Xia T, Wang Q. Antihyperglycemic effect of Cucurbita ficifolia fruit extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Fitoterapia* 2006; 77(7-8): 530-3.

9. - Hebb DO. The Organization of behavior: a neuropsychological theory. New York, NY: John Wiley & Sons, Inc; 1949.

10. Nasri O, Oryan S, Haeri Rohani A, Amin GH, Yahyavi H. The effects of *Vitex agnus castus* L. extract on gonadotrophines and testosterone in male Mice. *Iranian Int J Sci* 2004; 5(1): 25-30.

11. Bland R, Walker EA, Hughes SV, Stewart PM, Hewison M. Constitutive expression of 25-hydroxyvitamin D3-1alpha-hydroxylase in a transformed human proximal tubule cell line: evidence for direct regulation of vitamin D metabolism by calcium. *Endocrinology* 1999; 140(5): 2027-34.

12. Murkovic M, Hillebrand A, Draxl S, Pfannhauser W, Winkler J. Distribution of fatty acids and vitamin e content in pumpkin seeds (cucurbita pepo l.) in breeding lines. *Acta Hort* 1999; 492: 47-56.

13. Gong J, Shi F, Shao L, Zheng X. [Effects of soy bean phospholipids on learning and memory ability and contents of lipids in mice's brain]. *Wei Sheng Yan Jiu* 2004; 33(3): 324-7.

14. Moazedi A, Moosavi M, Chinipardaz R. The Effect of Estrogen on Passive Avoidence Memory in an Experimental Model of Alzheimer`s disease in Male Rats. *Physiol Pharmacol* 2011; 14(4): 416-25 [In Persian].

15. Ozkan Y, Yilmaz O, Ozturk AI, Ersan Y. Effects of triple antioxidant combination (vitamin E, vitamin C and alpha-lipoic acid)

with insulin on lipid and cholesterol levels and fatty acid composition of brain tissue in experimental diabetic and non-diabetic rats. *Cell Biology International I* 2005; 29(9): 754-60.

16.Das UN. Can memory be improved? A discussion on the role of ras, GABA, acetylcholine, NO, insulin, TNF-alpha, and long-chain polyunsaturated fatty acids in memory formation and consolidation. *Brain Dev* 2003; 25(4): 251-61.

17.Moazedi A, Solhjo K, Chinipardaz R. Effect of dietary corn oil on rats spatial learning. *Jundi Shapur J Health Sci* 1998; 3(29): 24-36. [In Persian].

18.Yang J, Jiang LN, Yuan ZL, Zheng YF, Wang L, Ji M, et al. Impacts of passive smoking on learning and memory ability of mouse offsprings and intervention by antioxidants. *Biomed Environ Sci* 2008; 21(2): 144-9.

19.Markovic VV, Bastic LV. Characteristics of pumpkin seed oil. *Journal of the American Oil Chemists Society* 1976; 53(1): 42-4.

20.Bendich A, Brock PE. Rationale for the introduction of long chain polyunsaturated fatty acids and for concomitant increase in the level of vitamin E in infant formulas. *Int J Vitam Nutr Res* 1997; 67(4): 213-31.

21.Tanaka A, Nishizaki T. The newly synthesized linoleic acid derivative FR236924 induces a long-lasting facilitation of hippocampal neurotransmission by targeting nicotinic acetylcholine receptors. *Bioorg Med Chem Lett* 2003; 13(6): 1037-40.

22.Breuer S, Pech K, Buss A, Spitzer C, Ozols J, Hol EM, et al. Regulation of stearoyl-CoA desaturase-1 after central and peripheral nerve lesions. *BMC Neurosci* 2004; 5: 15.

23. Hus DZ, Liu CT, li YH, Chu PY, Liu MY. Protective effcet nof daily sesame oil supplement on gentamicin- induced renal injury in rat. *Shock* 2010 :33(1): 88-92.

The Effect of Pumpkin Seed Extract on the Spatial Learning and Memory of Adult Male Rats in Barnes maze

Zahra Tamadonfard, M.Sc.[1*], Leili Sepehrara, Ph.D.[2], Habibalah Jouhary, Ph.D.[3]

1. Department of Animal Biology, Islamic Azad University, Jahrom Branch, Jahrom, Iran

2. Assistant Professor, Department of Biology, Islamic Azad University, Kazerun Branch, Kazerun, Iran

3. Assistant Professor, Department of Biology, Islamic Azad University, Darab Branch, Darab, Iran

* Corresponding author; e-mail: zahratamadon391@yahoo.com

(Received: 22 June 2013 Accepted: 22 Jan. 2014)

Abstract

Background & Aims: Memory and its role in learning have long been of interest to humans. Therefore, human beings have always sought ways to enhance their memory and reduce its deficit. In the present study, the effect of pumpkin seed extract on memory and learning in adult male rats were studied.

Methods: The rats (weighing 180-220 g) were divided into 7 groups (n = 8); control, sham (control and sham groups had normal food and water, but a week before the test, the control group received distilled water through oral gavage), and experimental groups. The experimental groups received pumpkin seed extract in doses of 100, 200, 400, and 800 mg/kg of body weight daily for 17 days. Training began 12 days after receiving seed extract. The extract was also administered during training. On day 18, probe trial was performed without the administration of the extract.

Results: Results showed that, in the groups receiving the extract, spatial memory increased significantly ($P < 0.05$); this increase, compared to the control and sham groups, was dose dependent.

Conclusion: The results indicate that administration of pumpkin seed extract, due to its content of omega fatty acids (oleic acid, linoleic acid) and vitamins D and E, increases spatial memory and learning.

Keywords: Barnes maze, Spatial memory, Learning, Oleic acid, Linoleic acid

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2014; 21(6): 551-561