ORIGINAL ARTICLE

Effects of Vitex Agnus-Castus Extract on Learning and Memory in Ovariectomized Rats

Najme Honari[1,2], Iran Pourabolli[2], Elham Hakimi zadeh[1], Ali Shamsizadeh[1], Fatemeh Amin[1], Mohammad Allatavakoli[1,3]

[1] Physiology-Pharmacology Research Center, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran
[2] Department of Biology, Sahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran
[3] Department of Physiology, Faculty of Mediicne, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran

(Received March 4, 2012; Accepted August 29, 2012)

Abstract

Background and purpose: Menopause is due to the cessation of ovarian activities and is associated with hypoestrogenemia that causes many complications including learning and memory disorders. Recent studies have shown that these cognitive disabilities are due to the diminished neuroprotective and neurotrophic effects of estrogen and accordingly, estrogen therapy may prevent or overcome such conditions. Estrogen therapy has many side effects so this study investigated the therapeutic effects of Vitex agnus castus-a phytoestrogens containing plant- on learning and memory disorders in ovariectomized rats.

Materials and methods: Forty two ovariectomized female Wistar rats (150 to 200g) were divided into five groups of seven as follows**:** control group, ovariectomy group**,** 8 mg/kg of Vitex agnus castus, 80 mg/kg of Vitex agnus castus, 40 µg/kg estradiol valerate, and a combination of tamoxifen (100 µg/kg) and Vitex agnus castus extract (80 mg/kg). The rats received these treatments orally for three months after ovariectomy. At the end of the therapeutic period, learning ability of the rats was measured using a shuttle box.

Results: The level of step-through latency increased in estradiol valerat at 40 µg/kg, Vitex agnus castus extracts at 8 and 80 mg/kg and control groups while time spent in the dark compartment decreased in these groups. The frequency of shocks was diminished only in rats that received 80 mg/kg Vitex agnus castus.

Conclusion: According to this study, Vitex agnus castus extract showed estrogen-like effects and improved memory disorder in ovariectomized female rats.

Keywords: Vitex agnus castus, memory and learning disorder, ovariectomy, menopause

J Mazand Univ Med Sci 2012; 22(93): 2-10 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و دوم شماره ۹۳ مهر سال ۱۳۹۱ (۱۰-۲)

بررسی اثر عصاره گیاه پنج انگشت (*Vitex agnus castus*) بر یادگیری و حافظه در موش های صحرایی اواریکتومی شده

نجمه هنری[۲،۱] ایران پور ابولی[۲] الهام حکیمی زاده[۱] علی شمسی زاده[۱] فاطمه امین[۱] محمد الله توکلی[۳،۱]

چکیده

سابقه و هدف: یائسگی ناشی از توقف فعالیت تخمدان‌ها است و با اختلال حافظه و یادگیری همراه می‌باشد. مطالعات نشان می‌دهد که اختلال حافظه و یادگیری به دلیل کاهش سطح استروژن بعد از یائسگی می‌باشد که آن هم ناشی از دو خاصیت نروپروتکتیو و نروتروفیک استروژن می‌باشد. بنابراین درمان با استروژن باعث کاهش اختلال حافظه و یادگیری می‌شود و از آن‌جا که استروژن درمانی دارای عوارضی می‌باشد، مطالعه حاضر اثر گیاه پنج انگشت (Vitex agnus castu) با فیتواستروژن بالا را بر یادگیری و حافظه، در موش‌های اواریکتومی شده مورد بررسی قرار می دهد.

مواد و روش‌ها: در مطالعه تجربی حاضر ۴۲ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار(Wistar) با وزن تقریبی ۱۵۰ تا ۲۰۰ گرم به شش گروه هفت تایی تقسیم شدند. گروه‌ها به ترتیب شامل کنترل، اواریکتومی، عصاره گیاه پنج انگشت با دوز ۸۰g/kg، عصاره گیاه پنج انگشت با دوز ۸ mg/kg، استرادیول با دوز ۴۰ µg /kg، ترکیب تاموکسیفن و عصاره گیاهی به ترتیب با دوز ۱۰۰ µg /kg و ۸۰ mg/kg بودند. پس از بیهوشی برای ایجاد اواریکتومی، تخمدان در هر طرف از ناحیه شکمی جانبی با دستگاه کوتر به آهستگی جدا شد. بعد از گذشت سه ماه با دستگاه شاتل باکس، حافظه حیوان تعیین شد.

یافته‌ها: در مقایسه با گروه اواریکتومی، گروه‌های کنترل، استرادیول با دوز ۴۰ µg /kg، عصاره گیاه پنج انگشت در دوزهای ۸۰ mg/kg و ۸ mg/kg، فاکتور STLr (مدت زمان تاخیر ورود حیوان با چهارپا به بخش تاریک در مرحله آزمون، Step-Through Latency) را افزایش و فاکتور TDC (مدت زمان ماندن حیوان با چهارپا در بخش تاریک، Time spent in Dark Compartment) را کاهش دادند. استروژن و عصاره گیاه در دوز ۸۰ mg/kg تعداد شوک را نیز کاهش دادند. تجویز ترکیب گیاه و تاموکسیفن، از تأثیر آن جلوگیری کرد.

استنتاج: عصاره گیاه پنج انگشت دارای اثری مشابه استروژن بوده و سبب بهبود اختلال یادگیری و حافظه ناشی از اواریکتومی، در موش ماده صحرایی می گردد.

واژه های کلیدی: گیاه پنج انگشت، اختلال یادگیری و حافظه، اواریکتومی، یائسگی

مقدمه

یائسگی نشانه‌ای از پایان دوره تولیدمثل زنان است که از توقف پایدار فعالیت تخمدان‌ها ناشی می‌شود. یائسگی طبیعی در غیاب ۱۲ بار قاعدگی در سال ایجاد شده و سبب پایین آمدن هورمون‌های جنسی و بالا رفتن

مؤلف مسئول: محمد الله توکلی- رفسنجان: دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، مرکز تحقیقات فیزیولوژی- فارماکولوژی E-mail:allahtavakoli@gmail.com

۱. مرکز تحقیقات فیزیولوژی- فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

۲. گروه زیست شناسی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

۳. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

تاریخ دریافت : ۱۳۹۰/۱۲/۱۴ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۱/۱/۱۶ تاریخ تصویب : ۱۳۹۱/۶/۸

سطح LH وFSH می‌شود. یائسگی دارای عوارضی از جمله گرگرفتگی، خستگی، زودرنجی، نقص در توازن حرکتی (لرزش)، اختلال حافظه، سرگیجه، اضطراب و افسردگی می‌باشد که بعضی از این نشانه‌ها در بین زنان یائسه پیشرفت کرده و یکی از این اختلال‌های رایج، اختلال حافظه و یادگیری است(۱). گیرنده استروژن در سه ناحیه مغزی کورتکس، مخ، هیپوکمپ و پایه پیش مغز که همگی در فرآیندهای یادگیری حافظه فعال هستند، یافت می‌شوند. تأثیر استروژن از طریق فعال سازی نورون های اعصاب مرکزی، ایجاد اتصالات سیناپس جدید در بین نورون‌ها و افزایش ایجاد سیناپس در هیپوکمپ، افزایش فعالیت سیستم کولینرژیک، افزایش جریان خون و متابولیسم گلوکز مغز و تأثیر روی سلول های گلیال انجام می‌گیرد(۲، ۳). همچنین گزارش شده که دو خاصیت نروپروتکتیو و نروتروفیک استروژن به نگهداری حافظه و یادگیری کمک می کند(۴). مصرف استروژن در زنان یائسه مانع از تشکیل پروتئین‌های β آمیلویید در نورون‌های CA1 هیپوکمپ شده و به همین دلیل، استروژن، از ابتلاء به بیماری آلزایمر پیشگیری می‌کند(۵). اختلال حافظه و یادگیری ناشی از یائسگی با درمان‌های جایگزین با استروژن بهبود یافته (۶، ۷) اما استفاده طولانی مدت از استروژن در زنان یائسه، خطر آندومتریوز و سرطان سینه را افزایش می‌دهد(۸، ۹). امروزه محققان به دنبال یافتن درمان جایگزین برای استروژن در زنان یائسه هستند تا ضمن بهره مندی از فواید استروژن از عوارض آن جلوگیری کنند از میان آنها فیتواستروژن‌ها، کانون توجه مطالعات قرار گرفته‌اند. فیتواستروژن‌ها، استروئیدهای گیاهی می‌باشند که ساختار و عملکرد مشابه استروژن دارند و تأثیرات مفیدی دارند. ساختار شیمیایی آن‌ها از دو فنیل فتائلین تشکیل شده که به رسپتور استروژن در شرایط داخلی و خارجی باند می‌شوند(۱۰، ۱۱). فیتواستروژن‌ها شامل سه دسته اصلی؛ فلاونوئید، کومستان و لیگنان می‌باشند(۱۰)، که مصرف آن‌ها در رژیم غذایی، رشد سلول‌های اپیتلیوم واژن را (که در حالت طبیعی وابسته به استروژن است) در سیتولوژی نشان داده است(۱۲). مطالعات نشان داده که استفاده از گیاهان فیتواستروژنی در موش‌های اواریکتومی، مانع از کاهش حافظه و یادگیری شده (۱۳، ۱۴)، به‌طور مثال، استفاده از گیاهان فیتواستروژن دار مانند زرد چوبه و Genistein به‌طور جداگانه به مدت سه ماه در گروهی از موش‌های اواریکتومی شده، مانع از کاهش حافظه و یادگیری شده است(۱۵، ۱۶). همچنین گزارش شده، زنان یائسه‌ای که از پنیر سویا (توفو) استفاده می کنند کمتر دچار اختلال حافظه می‌شوند(۱۷).

گیاه ویتکس (Vitex agnus castus) از خانواده Verbenaceae که دارای دوزهای زیادی از فیتواستروژن‌ها می‌باشد. گیاهی بوته گسترده است که بومی اروپا بوده و همچنین در بسیاری از نقاط دنیا به‌خصوص جنوب آمریکا هم می‌روید(۱۸، ۱۹). گیاه ویتکس در ایران نیز می‌روید که با نام پنج انگشت یا فلفل بیابانی شناخته شده و از آن به عنوان گیاه دارویی استفاده می‌شود. گیاه پنج انگشت حاوی اسانس‌هایی است که عمدتاً محتوی سابی نن، پی‌نن و سزکوئی ترپن‌ها می‌باشند و ترکیبات مختلف این گیاه شامل: آلکالوئیدی به نام ویتی سین، مشتقاتی از ایزوفلاون‌ها (ماده عمده آن کاستی سین) و فلاونوئیدهائی مانند پندولتین وکریزو فانول می‌باشند. میوه رسیده و خشک آن شامل دوگلیکوزید ایریدوئید آگنوساید و آکوبین می‌باشد که حاوی فلاونوئیدها و برخی روغن‌های ضروری است. فلاونوئید این گیاه خاصیت فیتواستروژنی گیاه را اثبات می‌کند. ترکیبات اسانس میوه این گیاه، حاوی سینئول و پی‌نن هستند(۲۰). از سوی دیگر، خواص درمانی میوه این گیاه سابقاً به عنوان تسکین دهنده قوای شهوانی، نیرو دهنده، اشتهاآور، بادشکن و در درمان دردهای قاعدگی، گرگرفتگی توصیه شده و دم کرده سرشاخه‌های گلدار این گیاه به عنوان ضد تشنج در اختلالات عصبی مورد

استفاده قرار گرفته است(۲۱). گیاه علاوه بر تأثیرات متعدد دیگر با توجه به خاصیت فیتواستروژنی خود ممکن است بتواند جایگزین مناسبی برای کمبود استروژن در زنان یائسه باشد. لذا تحقیق حاضر اثر عصاره گیاه پنج انگشت بر اختلال حافظه و یادگیری در موش صحرایی ماده اواریکتومی مورد مطالعه قرار گرفته و همچنین اثر آن با استروژن و تاموکسیفن (آنتاگونیست استروژن) مقایسه شد.

مواد و روش‌ها

حیوانات

در مطالعه تجربی حاضر، از ۴۲ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار (Wistar) با وزن ۲۵ ± ۱۷۵ گرم استفاده گردید. موش‌ها به‌طور تصادفی به گروه‌های هفت‌تایی تقسیم شده و در طول مطالعه تحت شرایط استاندارد آزمایشگاهی در دمای ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد و با دسترسی آزاد به آب و غذای کافی در شرایط مراقبتی یکسان با سیکل ۱۲ ساعت تاریکی/ روشنایی، نگهداری شدند. تحقیق حاضر از ۶ گروه آزمایشی استفاده شد که به شرح زیر می باشند:

۱- گروه کنترل: گروهی که اواریکتومی نشده و به مدت سه ماه با دوز ۱ml/kg سالین، گاواژ شدند.

۲- گروه اواریکتومی: گروهی که بعد از آن‌که اواریکتومی شدند به مدت سه ماه با دوز ۱ml/kg سالین، گاواژ شدند.

۳- گروه سوم شامل گروهی است که پس از عمل جراحی اواریکتومی، با دوز ۸۰ mg/kg عصاره گیاهی (در یک میلی لیترسالین) به مدت سه ماه گاواژ شدند.

۴- گروه چهارم شامل گروهی است که پس از عمل جراحی اواریکتومی، با دوز ۸ mg/kg عصاره گیاهی (در یک میلی لیترسالین) به مدت سه ماه گاواژ شدند.

۵- گروه پنجم شامل گروهی است که پس از عمل جراحی اواریکتومی، به مدت سه ماه با دوز ۴۰μg/kg استرادیول (در یک میلی لیترسالین) گاواژ شدند.

۶- گروه ششم شامل گروهی است که پس از عمل جراحی اواریکتومی، به مدت سه ماه با دوز مشخص ۸۰mg/kg عصاره گیاهی و ۱۰۰μg/kg تاموکسیفن (آنتاگونیست استروژن؛ در یک میلی لیترسالین) گاواژ شدند.

داروها

داروهای مورد استفاده شامل ۱- عصاره آبی الکلی گیاه پنج انگشت ۲- استرادیول والرات، (تولید شده شرکت داروسازی ابوریحان– ایران) و ۳- تاموکسیفن (تولید شده شرکت داروسازی ایران- هورمون α) بودند.

روش تهیه عصاره گیاهی

این گیاه برای اولین بار در سال ۱۹۹۳ میلادی در استان اصفهان، شهرستان خورو بیابانک، روستای بازیاب، در ارتفاع ۱۳۵۰ متری از سطح دریا شناسایی و توسط کارشناسان هرباریوم مرکزی اصفهان با شماره ثبت ۹۲۵۲ مورد تأیید قرار گرفت. میوه خشک این گیاه آسیاب شده و ۵۰۰ گرم از آن با اتانول ۵۰ درصد در دستگاه سوکسله عصاره‌گیری و سپس با دستگاه روتاری تبخیر حلال انجام و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد در آون خشک شد و عصاره گیاه براساس وزن خشک آن استاندارد گردید و در پایان، از پودر حاصله، دوزهای مورد نظر در نرمال سالین، تهیه گردید.

جراحی اواریکتومی

موش‌ها با تزریق داخل صفاقی محلول کتامین سولفات ۵۰ mg/kg و زایلازین ۴ mg/kg، بیهوش و سپس ناحیه شکمی تراشیده شد. طرفین بخش شکمی بین سینه‌های ۲ و ۳ کنار عضله ران موش شکافته شد و تخمدان توسط دستگاه کوتر جدا و خارج گردید و در پایان ۲۲۰۰۰ واحد پنی‌سیلین عضلانی به هر حیوان تزریق گردید. به مدت شش روز بعد از اواریکتومی اسمیر، واژن تهیه می‌شد و در صورتی اواریکتومی موفقیت‌آمیز در نظر گرفته می‌شد که طرح سرخسی در گسترش اسمیر و همچنین سلول‌های شاخی مشاهده نمی‌شدند(۱۳).

تست حافظه (آزمون احترازی غیر فعال)

حافظه هر موش سه ماه پس از اواریکتومی در یک شاتل باکس اتوماتیک مدل (LE900 panlab) ساخت آمریکا که به دو بخش تاریک/ روشن که به اندازه یکسان تقسیم شده و با یک درب متحرک اتوماتیک از هم جدا و کف آن که از میله‌های ضد زنگ ساخته شده بود تست و بررسی گردید.

در مرحله عادت کردن آزمایش انفرادی که طی آن، موش به مدت ۳۰ دقیقه در آزمایشگاه قرار می‌گرفت و بعد به بخش روشن برده بعد از ۵ ثانیه درب گیوتینی باز و مدت زمان تأخیر ورود موش به بخش تاریک ثبت شد (موش‌هائی که مدت زمان تأخیر ورودشان به بخش تاریک بیش از ۱۰۰ ثانیه بود از آزمایش حذف شدند).

در مرحله بعدی، درب گیوتینی بسته و بعد از ۱۰ ثانیه موش به قفس برده و در مرحله یادگیری، به مدت ۳۰ دقیقه در آزمایشگاه قرار گرفت و سپس به بخش روشن منتقل شده، بعد از ۵ ثانیه درب گیوتینی باز و مدت زمان تأخیر ورود موش به بخش تاریک (Step-Through Latency, STLa) ثبت شد. در این مرحله به محض ورود موش به بخش تاریک، درب به طور اتوماتیک بسته و یک شوک غیر قابل اجتناب به پای موش از طریق میله‌ها وارد شد (نیم میلی‌آمپر به مدت ۲ ثانیه) و سپس بعد از ۳۰ ثانیه موش به قفس منتقل و آنقدر مرحله یادگیری تکرار شد که تا موش به مدت ۱۲۰ ثانیه در اتاق روشن باقی ماند. تعداد دفعات شوک در این مرحله ثبت گردید.

حافظه، ۲۴ساعت پس از آزمون یادگیری، اندازه‌گیری شد و پس از قرار دادن حیوان در بخش روشن، درب گیوتینی بعد از پنج ثانیه باز شد. در این مرحله مدت زمان تأخیر ورود موش به بخش تاریک (Step-Through Latency, STLr) ثبت گردید (در صورتی که موش تا ۳۰۰ ثانیه وارد بخش تاریک نشد از اتاق روشن خارج شده و عدد ۳۰۰ برای آن در نظر گرفته شد) و در صورت ورود به بخش تاریک، مدت زمان ماندن در بخش تاریک، تحت عنوان TDC ثبت گردید(۲۲).

فعالیت حرکتی

برای اندازه‌گیری فعالیت حرکتی موش‌ها، از یک جعبه شیشه‌ای (۳۵ cm × ۳۵ cm × ۳۵ cm) با کف پلاستیکی مشکی استفاده گردید. فعالیت حرکتی هر موش بعد از سه ماه به مدت ۳۰ دقیقه توسط دوربینی که قادر به فیلمبرداری در نور بسیار کم و همچنین در تاریکی می‌باشد، ثبت (سرعت ارسال تصاویر دوربین ۹۶۰۰ بایت بر ثانیه می‌باشد) و سپس با نرم افزار Ethovision، کل مسافت طی شده و متوسط سرعت بر حسب سانتی‌متر بر ثانیه برای هر موش، محاسبه گردید(۲۳).

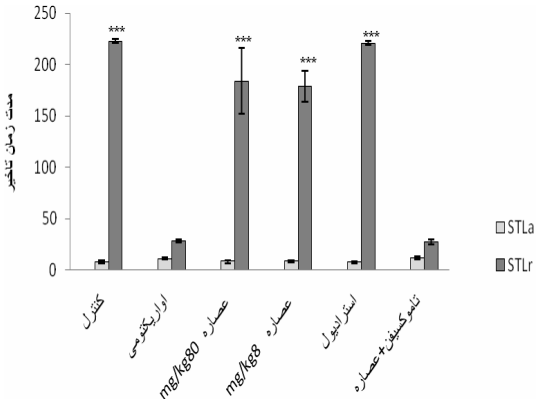
برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آمار توصیفی، آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون توکی (Tukey Post-hoc) استفاده و سطح $p<۰/۰۵$، تفاوت معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

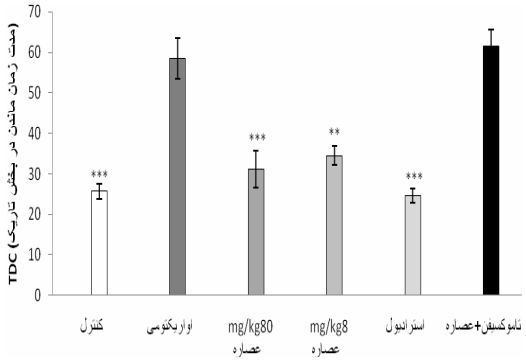
اثر عصاره گیاه پنج انگشت بر یادگیری و حافظه

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تجویز خوراکی عصاره گیاه پنج انگشت در دوزهای (۸ mg/kg و ۸۰mg/kg) به مدت سه ماه بر Stla(s) (مدت زمان تأخیر ورود حیوان با چهارپا به بخش تاریک در مرحله یادگیری) (نمودار شماره ۱) اثر معنی‌داری نداشت. اما تجویز خوراکی عصاره گیاهی پنج انگشت در دوزهای (۸ mg/kg و ۸۰ mg/kg) بر Stlr(s) (مدت زمان تأخیر ورود حیوان با چهارپا به بخش تاریک در مرحله آزمون) (نمودار شماره ۱) به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه اواریکتومی افزایش نشان داد ($p <۰/۰۰۱$) ولی نسبت به گروه کنترل اثر معنی‌داری نداشت. تجویز خوراکی عصاره گیاهی پنج انگشت در دوزهای (۸۰mg/kg) به مدت سه ماه بر TDC (S)

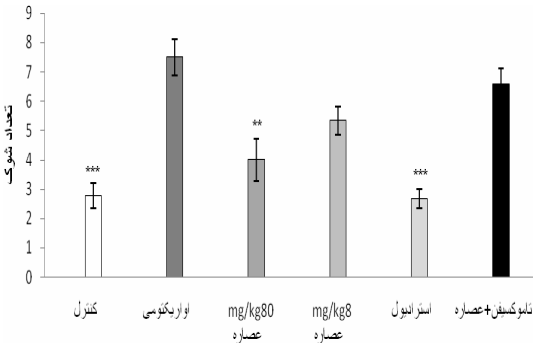
(مدت زمان ماندن حیوان با چهارپا در بخش تاریک) (نمودار شماره ۲) (p <۰/۰۰۱) و تجویز خوراکی عصاره گیاهی پنج انگشت در دوزهای (۸ mg/kg) به مدت سه ماه بر TDC(s) (مدت زمان ماندن حیوان با چهارپا در بخش تاریک) (p <۰/۰۵) به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه اواریکتومی کاهش نشان داده و نسبت به گروه کنترل اثر معنی‌داری نداشت (نمودار شماره ۲). تجویز خوراکی عصاره گیاهی پنج انگشت در دوزهای (۸۰mg/kg) به مدت سه ماه بر تعداد شوک (مرحله یادگیری) به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه اواریکتومی کاهش نشان داده (p <۰/۰۵) و نسبت به گروه کنترل اثر معنی‌داری نداشت (نمودار شماره ۳). تجویز خوراکی عصاره گیاهی پنج انگشت در دوزهای (۸ mg/kg) به مدت سه ماه بر تعداد شوک (مرحله یادگیری) تغییر معنی‌داری در مقایسه با گروه اواریکتومی نشان نداد ولی به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل افزایش نشان داده است (p <۰/۰۰۱) (نمودار شماره ۳).



نمودار شماره ۱: بررسی اثر عصاره گیاهی پنج انگشت در دوزهای ۸۰mg/kg و ۸mg/kg و استرادیول با دوز ۴۰ µg/kg، تاموکسیفن و عصاره گیاهی تواماً با دوزهای ۱۰۰ µg/kg و ۸۰mg/kg بر STLa (مدت زمان تاخیر ورود حیوان به بخش تاریک قبل از شوک) و STLr (مدت زمان تاخیر ورود حیوان به بخش تاریک بعداز شوک). نتایج به صورت mean±SEM بیان شده است. p<۰/۰۰۱ *** در مقایسه با گروه کنترل بوده و n=۷ در هرگروه می باشد.



نمودار شماره ۲: بررسی اثر عصاره گیاه پنج انگشت در دوزهای ۸۰mg/kg و ۸mg/kg و استرادیول در دوز ۴۰ µg/kg و تاموکسیفن و عصاره گیاهی تواماً با دوز های ۱۰۰ µg/kg و ۸۰mg/kg، بر TDC (Time Spent in Dark Compartment). نتایج به صورت mean±SEM بیان شده است. p<۰/۰۰۱ ***، p< ۰/۰۵ ** در مقایسه با گروه اواریکتومی بوده و n=۷ در هر گروه می باشد.



نمودار شماره ۳: بررسی اثر عصاره گیاهی پنج انگشت در دوزهای ۸۰mg/kg و ۸mg/kg و استرادیول در دوز ۴۰ µg/kg و تاموکسیفن و عصاره گیاهی تواماً با دوز های ۱۰۰ µg/kg و ۸۰mg/kg، بر تعداد شوک نتایج به صورت mean±SEM بیان شده است P<۰/۰۰۱ *** و p< ۰/۰۵ ** در مقایسه با گروه کنترل بوده و n=۷ در هرگروه می باشد.

تجویز خوراکی استرادیول در دوز (۴۰µg/kg) به مدت سه ماه بر stla(s) (مدت زمان تأخیر ورود حیوان به بخش تاریک) (نمودار شماره ۱) تغییر معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد. تجویز خوراکی استرادیول در دوز (۴۰ µg/kg) به مدت سه ماه بر (s) Stlr (مدت زمان تأخیر ورود حیوان به بخش تاریک در

مرحله آزمون) (نمودار شماره ۱) به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه اواریکتومی افزایش نشان داده (p<۰/۰۰۱). و نسبت به گروه کنترل اثر معنی‌داری مشاهده نشد. تجویز خوراکی استرادیول در دوز (۴۰μg/kg) به مدت سه ماه بر TDC(S) (مدت زمان ماندن حیوان در بخش تاریک) (نمودار شماره ۲) به‌طور معنی‌داری در مقایسه با گروه اواریکتومی کاهش نشان داده (p <۰/۰۰۱). و همچنین بر تعداد شوک (مرحله یادگیری) (نمودار شماره ۳) به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل کاهش داد (p <۰/۰۰۱). و نسبت به گروه کنترل اثر معنی داری نشان نداد.

تجویز خوراکی عصاره گیاهی با دوز ۸۰mg/kg و تاموکسیفن (آنتاگونیست استروژن) با دوز ۱۰۰ μg/kg تواماً به مدت سه ماه بر Stla (s) (مدت زمان تأخیر ورود حیوان به بخش تاریک) (نمودار شماره ۱) در مقایسه با گروه اواریکتومی و کنترل اثر معنی‌داری مشاهده نشد. تجویز خوراکی عصاره گیاهی با دوز ۸۰mg/kg و تاموکسیفن (آنتاگونیست استروژن) با دوز ۱۰۰μg/kg تواماً به مدت سه ماه بر Stlr (s) (مدت زمان تأخیر ورود حیوان به بخش تاریک در مرحله آزمون) (نمودار شماره ۱) در مقایسه با گروه اواریکتومی اثر معنی‌داری مشاهده نشد ولی به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل افزایش نشان داد (p<۰/۰۰۱).

تجویز خوراکی عصاره گیاهی با دوز ۸۰mg/kg و تاموکسیفن (آنتاگونیست استروژن) با دوز ۱۰۰ μg/kg تواماً به مدت سه ماه بر TDC(S) (مدت زمان ماندن حیوان با چهارپا در بخش تاریک) (نمودار شماره ۲) در مقایسه با گروه اواریکتومی اثر معنی‌داری مشاهده نشد. ولی به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل افزایش نشان داد (p <۰/۰۰۱).

تجویز خوراکی عصاره گیاهی با دوز ۸۰mg/ kg و تاموکسیفن (آنتاگونیست استروژن) با دوز ۱۰۰ μg/kg تواماً به مدت سه ماه بر تعداد شوک (مرحله یادگیری) (نمودار شماره۳) در مقایسه با گروه اواریکتومی اثر معنی‌داری مشاهده نشد ولی به طور معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل افزایش نشان داد (p<۰/۰۰۱) و در نهایت این‌که، در هیچ‌کدام از گروه‌ها تفاوت معنی‌داری در فعالیت حرکتی نسبت به گروه کنترل مشاهده نشد.

بحث

کاهش هورمون‌های تخمدانی به علت یائسگی در زنان سبب عوارضی می‌شود که برای بهبود این عوارض، هورمون تراپی یا درمان جایگزین با استروژن متداول شده است و از آن‌جایی که استفاده طولانی مدت از داروهای استروژنی خطر سرطان سینه و آندومتریوز را بالا می‌برد ترجیحاً از فیتواستروژن ها استفاده می‌شود. فیتواستروژن‌ها تعدیل‌کننده‌های هورمونی هستند که در شرایطی که سطح هورمون استروژن پایین باشد به عنوان یک آگونیست استروژن عمل نموده و اثرات شبه استروژنی ایجاد می‌کنند و در شرایط بالا رفتن سطح هورمون استروژن به عنوان یک آنتاگونیست عمل می‌کنند(۲۵،۲۴). لذا در مطالعه حاضر، اثر گیاه پنج انگشت بر اختلال حافظه و یادگیری ناشی از اواریکتومی بررسی شد. یافته‌ها نشان داد که عصاره گیاه پنج انگشت در دوزهای ۸ mg/kg و ۸۰mg/kg میزان یادگیری و حافظه را به طور معنی‌داری افزایش داده که این اثرات به‌خصوص در دوز بالای گیاه با استروژن برابری نشان داده و جالب‌تر آن‌که آنتاگونیست استروژن تأثیرات مفید این گیاه را بر یادگیری و حافظه کاهش داده و بیانگر این است که، عصاره گیاه از طریق اثر بر رسپتور استروژن تاثیرات مفیدی بر بهبود اختلال یادگیری و حافظه اعمال کرده است. از آن‌جا که عصاره‌های گیاه پنج انگشت و استروژن بر فعالیت حرکتی موش‌ها تأثیری نداشتند، لذا تفاوت معنی‌داری در بهبود اختلال حافظه و یادگیری ناشی از تغییر فعالیت حرکتی مشاهده نشد.

مطالعات متعدد دیگری نیز، اثرات گیاهان فیتواستروژن‌ها را بر یائسگی مورد بررسی قرار داده

است. از جمله مطالعه Albertazzi و همکاران (۱۹۹۹)، که اثر تغذیه مکمل با سویا بر روی ۵۴ زن یائسه که در روز حداقل ۷ بار دچار گر گرفتگی می‌شدند را مورد بررسی قرار داده و کاهش میزان گرگرفتگی را نشان داد(۲۶). همچنین LI و همکاران (۲۰۰۴)، در مطالعه‌ای، اثر سویا و داروهای سنتی حاوی فیتواستروژن‌ها چین را بر زنان بررسی و کاهش میزان دردهای ناشی از قاعدگی را مشاهده کردند(۲۷). Barnabei و همکاران (۲۰۰۵) در مطالعه‌ای دیگر، اثر گیاه فیتواستروژن دار زرد چوبه را در گروهی از موش‌های اواریکتومی شده بررسی و نتایج اثر آنرا که مانع از کاهش حافظه شده است را مشاهده کردند(۸). Gallo و همکاران (۲۰۰۶) نیز، اثر فیتواستروژن‌های سویا را بر روی سلول‌های تومور سینه (MC-7) بررسی و مشاهده کردند که فیتواستروژن‌ها مانع از رشد سلول‌های تومور سینه (MC-7) شده‌اند(۲۸). Ball و همکاران (۲۰۱۰)، در مطالعه‌ای، اثر گیاه فیتواستروژن‌دار genistein را در گروهی از موش‌های اواریکتومی شده بررسی و مشاهده کردند که این گیاه مانع از کاهش حافظه می‌شود(۲۴). Pan و همکاران (۲۰۱۰)، در مطالعه‌ای اثر تغذیه مکمل با سویا را بر حافظه و بیان رسپتور BDNF و TrkB مطالعه کرده و یافته‌های آنان نشان داد که سویا با خاصیت فیتواستروژنی خود حافظه را بهبود بخشیده و بیان رسپتورهای BDNF و TrkB را که باعث رشد سیناپس‌ها هستند را افزایش می‌دهد(۲۹). همچنین مطالعه دیگری اثر گیاه پنج انگشت را در کاهش گرگرفتگی دوران یائسگی نشان داده است(۲۰). در مجموع، داده‌های مطالعه حاضر نشان داد که، عصاره گیاه پنج انگشت قادر است، کاهش اختلال حافظه و یادگیری ناشی از فقدان هورمون‌های تخمدانی را افزایش دهد به گونه‌ای که دوز ۸۰ mg/kg از آن به اندازه استرادیول، مؤثر بود. از سوی دیگر اثر گیاه با آنتاگونیست استروژن مهار و احتمالاً با اثرش بر رسپتور استروژن قدرت یادگیری و حافظه را افزایش داده است.

نظر به این‌که درمان‌های جایگزین طولانی مدت با گیاهان فیتواستروژنی ممکن است عوارضی جانبی را به دنبال داشته باشند، لذا مطالعات وسیع‌تری در خصوص بررسی اثرات جانبی این‌گیاهان پیشنهاد می گردد. اگرچه رحم، پستان‌ها و سرویکس از نظر وجود هرگونه توده‌ای، بررسی و در هیچ‌یک از نمونه‌ها، مورد توده‌ای مشاهده نشد. از محدودیت‌های این پژوهش، از عدم بررسی تغییرات هیستولوژیک در بافت‌های هدف استروژن، نظیر رحم و پستان‌ها نام می‌باشد.

سپاسگزاری

مطالعه حاضر حاصل طرح تحقیقاتی شماره ۹/۲۰/۶۹۲ می‌باشد که با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان انجام شده است.

References

1. Hardy R, Kuh D. Change in psychological and vasomotor symptom reporting during the menopause. Soc Sci Med 2002; 55(11): 1975-1988.
2. Anderer P, Saletu B, Gruber D, Linzmayer L, Semlitsch HV, Saletu-Zyhlarz G, et al. Age-related cognitive decline in the menopause: effects of hormone replacement therapy on cognitive event-related potentials. Maturitas 2005; 51(3): 254-269.
3. Wise PM, Dubal DB, Wilson ME, Rau SW, Bottner M. Minireview: neuroprotective effects of estrogen-new insights into mechanisms of action. Endocrinology 2001; 142(3): 969-973.
4. Gandy S. Estrogen and neurodegeneration. Neurochem Res 2003; 28(7): 1003-1008.
5. Espeland MA, Rapp SR, Shumaker SA, Brunner R, Manson JE, Sherwin BB, et al. Conjugated equine estrogens and global cognitive function in postmenopausal women:

Women's Health Initiative Memory Study. JAMA 2004; 291(24): 2959-2968.

6. Arpels JC. The female brain hypoestrogenic continuum from the premenstrual syndrome to menopause. A hypothesis and review of supporting data. J Reprod Med 1996; 41(9): 633-639.
7. Sherwin BB. Estrogen and cognitive functioning in women: Lessons we have learned. Behav Neurosci 2012; 126(1): 123-127.
8. Barnabei VM, Cochrane BB, Aragaki AK, Nygaard I, Williams RS, McGovern PG, et al. Menopausal symptoms and treatment-related effects of estrogen and progestin in the Women's Health Initiative. Obstet Gynecol 2005; 105(5 pt 1): 1063-1073.
9. Hammond CB. Women's concerns with hormone replacement therapy--compliance issues. Fertil Steril 1994; 62(6 Suppl 2): 157S-160S.
10. Duncan AM, Phipps WR, Kurzer MS. Phyto-oestrogens. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2003; 17(2): 253-271.
11. Welshons WV, Murphy CS, Koch R, Calaf G, Jordan VC. Stimulation of breast cancer cells in vitro by the environmental estrogen enterolactone and the phytoestrogen equol. Breast Cancer Res Treat 1987; 10(2): 169-175.
12. Wilcox G, Wahlqvist ML, Burger HG, Medley G. Oestrogenic effects of plant foods in postmenopausal women. BMJ 1990; 301(6757): 905-906.
13. Li H, Li SL, Wu ZH, Gong L, Wang JL, Li YZ. Effect of traditional Chinese herbal Bu-Wang-San on synaptic plasticity in ovariectomised rats. J Pharm Pharmacol 2009; 61(1): 95-101.
14. Kazemian A, Bromand Far Kh, Ghanadi A, Nourian K. Effect of Vitagnus and Passi-pay on hot flash of menopausal women. J Shahrekord Univ Med Sci 2005; 7(1): 0-0.
15. Ball ER, Caniglia MK, Wilcox JL, Overton KA, Burr MJ, Wolfe BD, et al. Effects of genistein in the maternal diet on reproductive development and spatial learning in male rats. Horm Behav 2010; 57(3): 313-322.
16. Su J, Sripanidkulchai K, Wyss M, Sripanidkulchai B. Curcuma comosa improves learning and memory function on ovariectomized rats in a long-term Morris water maze test. J Ethnopharmacol 2010; 130(1): 70-75.
17. Kreijkamp-Kaspers S, Kok L, Grobbee DE, de Haan EH, Aleman A, Lampe JW, et a. Effect of soy protein containing isoflavones on cognitive function, bone mineral density, and plasma lipids in postmenopausal women: randomized controlled trial. JAMA 2001; 292(1): 65-74.
18. Webster DE, Lu J, Chen SN, Farnsworth NR, Wang ZJ. Activation of the mu-opiate receptor by Vitex agnus-castus methanol extracts: implication for its use in PMS. J Ethnopharmacol 2006; 106(2): 216-221.
19. Chen SN, Friesen JB, Webster D, Nikolic D, van Breemen RB, Wang ZJ, et al. Phytoconstituents from Vitex agnus-castus fruits. Fitoterapia 2011; 82(4):528-533.
20. Kazemian A, Boroumand Far Kh, Ghanadi AR, Noorian K. Effect of Vitagnus and Passi-pay on hot flash of menopausal Women. J Shahrekord Univ Med Sci 2005; 7(1): 45-39 (Persian).
21. Zargari A. Medicinal plants. 37th ed. Tehran: University of Tehran press; 2011. p. 733-748.
22. Hasanein P, Shahidi S. Effects of Hypericum perforatum extract on diabetes-induced learning

and memory impairment in rats. Phytother Res 2011; 25(4): 544-549.

23. Rajabi S, Shamsizadeh A, Amini H, Shirazi M, Allahtavakoli M, Abbasnejad M, et al. Effect of DSP-4 induced central noradrenergic depletion on tactile learning in rat. Neurol Res 2012; 34(1):80-84.
24. Ball ER, Caniglia MK, Wilcox JL, Overton KA, Burr MJ, Wolfe BD, et al. Effects of genistein in the maternal diet on reproductive development and spatial learning in male rats. Horm Behav 2010; 57(3): 313-322.
25. Xu X, Duncan AM, Merz BE, Kurzer MS. Effects of soy isoflavones on estrogen and phytoestrogen metabolism in premenopausal women. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1998; 7(12): 1101-1108.
26. Albertazzi P, Pansini F, Bottazzi M, Bonaccorsi G, De Aloysio D, Morton MS. Dietary soy supplementation and phytoestrogen levels. Obstet Gynecol 1999; 94(2): 229-231.
27. Li M, Poon P, Woo J. A pilot study of phytoestrogen content of soy foods and traditional Chinese medicines for women's health in Hong Kong. Int J Food Sci Nutr 2004; 55(3): 201-205.
28. Gallo D, Ferlini C, Fabrizi M, Prislei S, Scambia G. Lack of stimulatory activity of a phytoestrogen-containing soy extract on the growth of breast cancer tumors in mice. Carcinogenesis 2006; 27(7): 1404-1409.
29. Pan M, Li Z, Yeung V, Xu RJ. Dietary supplementation of soy germ phytoestrogens or estradiol improves spatial memory performance and increases gene expression of BDNF, TrkB receptor and synaptic factors in ovariectomized rats. Nutr Metab (Lond) 2010; 15(7): 75.