

بررسی عصاره‌ی هیدروالکلی میوه تمشک (Raspberry fruit) بر حافظه‌ی احترازی غیرفعال و درد ناشی از ایسکمی مغزی و خون‌رسانی مجدد به مغز در رت نژاد ویستار

محمدحسین محمدی مهدی‌آبادی^۱، مجتبی مرادی^۲، سیداسماعیل خوشنام^۲، شیما محمدی^{۳*}

۱- گروه علوم جانوری، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
۲- گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور، اهواز، ایران

۳- گروه علوم اعصاب، دانشکده فناوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
*آدرس مکاتبه: تهران، خیابان انقلاب، خیابان قدس، خیابان ایتالیا، گروه علوم اعصاب، دانشکده فناوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
تلفن: ۴۳۰۵۲۰۰۰ (۰۲۱)، نمابر: ۸۸۹۹۱۱۱۷ (۰۲۱)
پست الکترونیک: shimamohamadi1365@gmail.com

تاریخ تصویب: ۹۶/۳/۳۱

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۰/۲۰

چکیده

مقدمه: ایسکمی مغزی یکی از علل اصلی مرگ و ناتوانی جسمی در جهان است. فلاونوئیدهای موجود در تمشک با غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد، می‌توانند نقش مهمی در برابر آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو در سیستم‌های بیولوژیک ایفا کنند. هدف: هدف از مطالعه حاضر بررسی عصاره هیدروالکلی تمشک بر آسیب‌های ناشی از ایسکمی رپرفیوژن مغزی در رت نژاد ویستار بود. روش بررسی: در این مطالعه تجربی، ۴۲ موش صحرایی بالغ نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم به شش گروه (شاهد) sham، گروه ایسکمی رپرفیوژن دریافت‌کننده نرمال سالین و گروه ایسکمی رپرفیوژن تیمار شده با عصاره تمشک (دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم، به صورت درون صفاقی) تقسیم شدند. ایسکمی گلوبال مغزی بوسیله مسدود کردن شریان کاروتید مشترک به مدت ۳۰ دقیقه انجام شد و متعاقباً برقراری جریان خون انجام می‌شد. تست رفتاری توسط شاتل باکس و تست ضددرد توسط تیل فیلیک انجام شد. نتایج: تجویز عصاره تمشک در دوزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب افزایش معنی‌دار ($P < 0/05$) حافظه احترازی غیرفعال شد. همچنین، عصاره تمشک موجب افزایش تأخیر رفلکس درد در تست تیل فیلیک شد. نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه حاضر حاکی از اثرات حفاظتی عصاره میوه تمشک در برابر اختلال حافظه احترازی و درد ایجاد شده در اثر ایسکمی بود که احتمالاً به دلیل اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی عصاره میوه تمشک بوده است.

کل واژگان: ایسکمی / رپرفیوژن مغزی، تمشک، حافظه، درد، یادگیری



مقدمه

سکته مغزی یکی از علل عمده ناتوانی و سومین عامل مرگ و میر انسان به شمار می‌رود. در چند دهه گذشته شیوع سکته مغزی بویژه در جوامع در حال توسعه به طور قابل توجهی افزایش داشته است [۱]. توقف و یا کاهش جریان خون در ناحیه‌ی ایسکمی، منجر به دپولاریزاسیون غیرقابل کنترل نورونی شده و در نتیجه افزایش سایتوکاین‌ها و عوامل التهابی، آزادسازی اسیدهای آمینه تحریکی، تولید رادیکال‌های آزاد، ایجاد اسیدوز و افزایش کلسیم داخل سلولی در نواحی ایسکمی شده را منجر می‌شود [۳-۱]. فقدان اکسیژن و مواد مغذی موجود در خون در طول دوره ایسکمی و بازگشت مجدد گردش خون، از طریق القاء استرس اکسیداتیو منجر به التهاب و آسیب اکسیداتیو بافت می‌شود [۴]. درون سلول‌ها سیستم‌های آنزیمی و غیرآنزیمی جهت جلوگیری از استرس اکسیداتیو وجود دارند. در شرایط فیزیولوژیکی سطح شکل‌گیری ROS (Reactive Oxygen Species) در تعادل با ظرفیت آنتی‌اکسیدان سلول می‌باشد. در صورتی که سلول به مدت طولانی در معرض استرس‌های محیطی مانند گرما، UV و ... قرار بگیرد و یا در فعالیت دفاعی آنتی‌اکسیدان بدن اختلالی ایجاد شود، این تعادل به هم می‌خورد و سطح شکل‌گیری ROS بیشتر از ظرفیت آنتی‌اکسیدان بدن خواهد بود، نتیجه‌ی چنین حالتی ایجاد استرس اکسیداتیو خواهد بود [۵، ۶]. چنین به نظر می‌رسد حضور رادیکال‌های آزاد می‌تواند نقش مهمی را در شرایط پاتولوژیک سیستم اعصاب مرکزی بازی کند، این رادیکال‌های می‌توانند به صورت مستقیم باعث تخریب بافت یا آسیب بافتی شوند [۷، ۸]. همچنین بسیاری از مطالعات نقش مواد غنی از آنتی‌اکسیدان را در کاهش سکته‌ی مغزی مؤثر دانسته‌اند [۹]. استفاده از مواد و یا داروهای گیاهی که خاصیت آنتی‌اکسیدان قوی داشته باشد، ممکن است بتواند مغز را در مقابل آسیب‌های ناشی از اکسیدانت‌ها در سکته مغزی تا حدودی محافظت نموده و باعث کاهش مرگ و میر نورونی شود [۱۰].

تمشک سیاه وحشی با نام علمی *Rubus fruticosus*

متعلق به خانواده‌ی Rosaceae می‌باشد. این گیاه در بسیاری از نقاط جهان یافت می‌شود و بسیاری از اثرات بیولوژیکی مفید از جمله ضد دیابت، ضد باکتری، ضد التهاب، آنتی‌اکسیدان، ضد اسهال، ضد تومور، ضد لقاح و محافظت از اعصاب را دارا می‌باشد (شکل شماره ۱) [۱۱، ۱۲].

تمشک سیاه دارای ایزوستریک و مالیک اسید، قند طبیعی، پکتین، مونوگلیکوزید سیانیدین، تانن (که به مقدار زیاد در پوست ریشه و برگ‌ها یافت می‌شود) آلکالوئیدها، فلاونوئیدها، اسید اسکوربیک، آهن، کربوهیدرات و سدیم و منیزیم و ویتامین A و C است [۱۳]. تمشک به عنوان یک میوه حاوی اسیدالائیک، از آسیب‌های ناخواسته به غشاهای سلول و دیگر ساختارها در بدن با خنثی کردن رادیکال‌های آزاد جلوگیری می‌کند. فلاونوئیدهای موجود در تمشک، با غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد نقش اصلی را در برابر خسارت‌های ناشی از تنش‌های اکسیداتیو در سیستم‌های بیولوژیک بازی می‌کنند و در نتیجه از بروز بیماری‌های قلبی - عروقی، سرطان و دیگر بیماری‌هایی که به این تنش‌ها مربوط است جلوگیری به عمل می‌آورند [۱۴]. آنتوسیانین تمشک سبب انعقاد پلاکت خون، ممانعت از تشکیل لخته‌های خونی دخیل در سکته‌ی مغزی، آمبولی ریوی، بیماری‌های عروقی محیطی و حمله‌ی قلبی و افزایش سطح کلسترول با دانسیته بالا (HDL) می‌شود [۱۵]. بسیاری از مطالعات نشان می‌دهد که ترکیبات فنلی و آنتوسیانین آن دارای خاصیت محافظت از اعصاب و ضد درد و آرام‌بخشی بوده و می‌تواند اختلالات حافظه مرتبط با سن و ناتوانایی در یادگیری را بهبود بخشد [۱۶]. با توجه به اینکه عصاره تمشک محتوی همه ترکیبات فعال و مواد مؤثر است، احتمالاً اثر محافظتی و آنتی‌اکسیدانتی آن بیشتر از کاربرد مجزای ترکیبات مؤثر آن در ایسکمی مغزی خواهد بود. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر عصاره‌ی تمشک بر اختلالات حافظه و درد ناشی از ایسکمی طراحی شد.





شکل شماره ۱- میوه و گیاه تمشک

مواد و روش‌ها

جهت انجام این بررسی میوه‌ی تمشک از استان مازندران (بهشهر) جمع‌آوری شد. پس از شناسایی گیاه توسط یک گیاه‌شناس (با کد هرباریوم ۵-۹۴۹) میوه‌های این گیاه با تهویه مناسب در سایه خشک شدند.

به منظور استخراج عصاره تمشک از روش پرکولاسیون (خیساندن) استفاده شد. میوه تمشک آسیاب شد. به منظور استخراج عصاره ۵۰۰ گرم از گیاه تمشک از اتانول ۸۰ درصد و آب به طور جداگانه استفاده شد. به این ترتیب که عصاره تمشک و حلال به نسبت ۱ به ۲۰ با هم مخلوط شد و اختلاط به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط روی شیکر انجام شد. سپس فیلتراسیون با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره یک و قیف بوختر به کمک پمپ خلاء انجام شد. قبل از صاف کردن توسط کاغذ صافی به عصاره استخراج شده اجازه داده شد تا بخش جامد بر اساس اختلاف دانسیته با حلال مورد استفاده، از حلال جدا شود. بخش اعظم حلال با استفاده از دستگاه تبخیر گردان چرخنده (روتاری) حذف شد. برای این منظور از خلأ ۲۵ میلی‌متر جیوه و دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد استفاده شد تا

میزان آسیب دیدن ترکیبات فنول به حداقل برسد. عصاره تغلیظ شده در سطح پلیت‌های شیشه‌ای به صورت ورقه نازک پخش و آنگاه به آون تحت خلأ با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند تا باقیمانده حلال هم حذف شود. عصاره آماده با وزن تقریبی ۵۰ گرم در فریزر نگهداری شد [۱۷].

موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی (۳۰۰ - ۲۵۰ گرم) از انیستیتو پاستور تهران خریداری شدند. حیوانات در شرایط آزمایشگاهی استاندارد (۱۲ ساعت روشنایی / ۱۲ ساعت تاریکی در دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد) با دسترسی آزاد به آب و غذای یکسان نگهداری شدند. در طی همه‌ی مراحل آزمایش طبق اصول نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی با حیوانات رفتار شد.

به منظور انجام این بررسی رت‌ها به صورت تصادفی به ۶ گروه ۷ تایی تقسیم شدند:

- ۱) گروه کنترل (n=7): گروهی که هیچ تزریق و جراحی در آنها صورت نگرفته است به عبارت دیگر حیوانات سالم هستند.
- ۲) گروه شاهد (n=7): گروهی که تنها نرمال سالین را دریافت می‌کنند.



دستگاه (آموزش) درون شاتل باکس با درب گیوتینی باز قرار داده شدند تا آزادانه بین درون و بیرون محفظه گردش کنند. سپس حیوان درون جعبه روشن قرار داده شده و زمان تأخیر رفتن حیوان به جعبه تاریک ثبت شد (یادگیری). به محض ورود حیوان به محفظه تاریک درب گیوتینی بسته شده و شوک الکتریکی به کف پای آن اعمال شد. ۲۴ ساعت بعد (یک روز بعد) مدت زمان تأخیر ورود حیوانات به محفظه تاریک (که قبلاً شوک داشت ولی این بار فاقد شوک می‌باشد) به عنوان حافظه‌ی اجتنابی غیرفعال بر حسب ثانیه اندازه‌گیری شد. این عمل برای همه‌ی موش‌ها در تمام گروه‌های مورد تحقیق انجام شد [۱۹، ۲۰].

برای اندازه‌گیری تغییر آستانه درد حرارتی از آزمون تیل‌فیلیک استفاده شد. این آزمایش با استفاده از دستگاه پرش دم ساخت شرکت برج صنعت ایران، انجام شد. شدت نور مورد استفاده ۷ درجه و مدت زمان قطع نوردهی به ثلث میانی دم حیوان ۱۰ ثانیه بود. چنانچه حیوان تا مدت ۱۰ ثانیه پس از تابش نور سوزان، دم خود را نمی‌کشید، به منظور جلوگیری از آسیب بافتی محرک قطع می‌شد. حیوان به صورت افقی در حالتی که دم آن آزاد باشد، در محفظه مخصوص نگهداری قرار گرفت. مدت زمان تأخیر در کشیدن دم در ۳ مرتبه (بعد از ۲ دقیقه، قبل از ۲۰ دقیقه و بعد از ۲۰ دقیقه از تزریق عصاره) اندازه‌گیری شد و میانگین آنها به عنوان زمان تأخیر قبل و بعد از عصاره محسوب و ثبت شد [۲۱].

آنالیز آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS انجام شد. آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (one-Way ANOVA) و به دنبال آن آزمون توکی برای تعیین اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها استفاده شد.

نتایج

تست رفتاری شاتل باکس نشان داد که ایسکمی به اختلال زیادی در حافظه کوتاه‌مدت منجر می‌شود. بهترین نتایج درمان در گروه تحت درمان با عصاره‌ی تمشک به دست آمد. به دلیل وجود آنتی‌اکسیدان‌ها در میوه‌ی تمشک، می‌توان علائم بهبود

۳) گروه ایسکمی (n=7): گروهی که تحت جراحی قرار گرفته است و شریان کاروتید مشترک به مدت ۳۰ دقیقه در این حیوانات مسدود شد.

۴) گروه تیمار شده با عصاره‌ی تمشک (n=21): گروهی که در آنها جراحی صورت گرفته و این حیوانات به مدت ۱۴ روز تحت تیمار با عصاره‌ی تمشک (۲۰۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) به صورت تزریق درون صفاقی قرار گرفته‌اند.

جهت القای ایسکمی موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار به وسیله‌ی تزریق داخل صفاقی کلرال هیدرات (۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند و سپس تحت شرایط استریل برشی در ناحیه‌ی قدامی گردن به اندازه‌ی ۲ سانتی‌متر ایجاد شد تا هر دو شریان کاروتید مشترک در معرض دید قرار گیرند. با ایجاد برش در غلاف کاروتید عصب واگ شناسایی و جدا و دقت شد تا هنگام کلامپ شریان دچار تحریک و آسیب نشود. سپس هر دو شریان کاروتید مشترک تسط میکروکلامپ مخصوص به مدت ۳۰ دقیقه مسدود شدند و جهت ایجاد ریپرفیوژن، کلامپ‌ها برداشته شدند تا جریان خون طبیعی در عروق مغز برقرار شود. دمای بدن موش‌ها در طول دوره به کمک لامپ حرارتی در حدود ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگه داشته شد. تزریق عصاره تمشک بعد از القای ایسکمی به صورت روزانه به مدت ۱۴ روز به صورت درون صفاقی انجام شد. در این تحقیق روش بررسی رفتار احترازی غیرفعال پس از بررسی به شرح زیر بود:

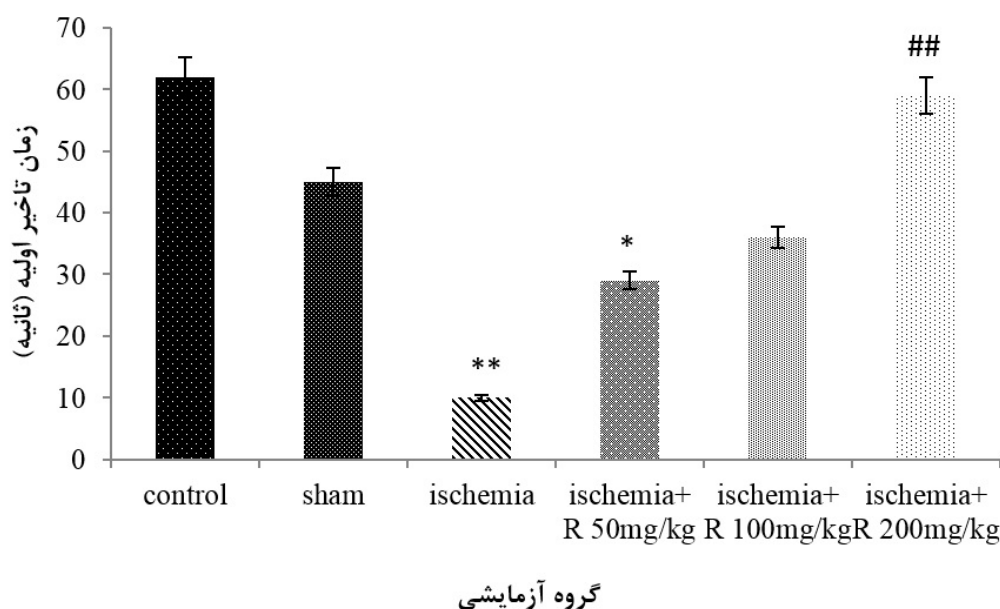
تست حافظه‌ی اجتنابی غیر فعال

با استفاده از دستگاه شاتل باکس (مدل ST-5500) که شامل دو محفظه یکی تاریک و دیگری روشن است و کف آنها از مفتول‌های فلزی استیل با قطر ۱ تا ۲ میلی‌متر و فواصل یک سانتی‌متر پوشیده شده است و توسط یک دستگاه تولید جریان الکتریکی شوک خفیفی به میزان ۷۵ ولت، ۰/۳ میلی‌آمپر به مدت ۳ ثانیه جریان متناوب در محفظه‌ی تاریک و تنها یک بار به کف پای حیوانات اعمال می‌شود، انجام گرفت [۱۸]. ابتدا حیوانات، هر کدام به مدت ۱۰ دقیقه به منظور آشنایی با



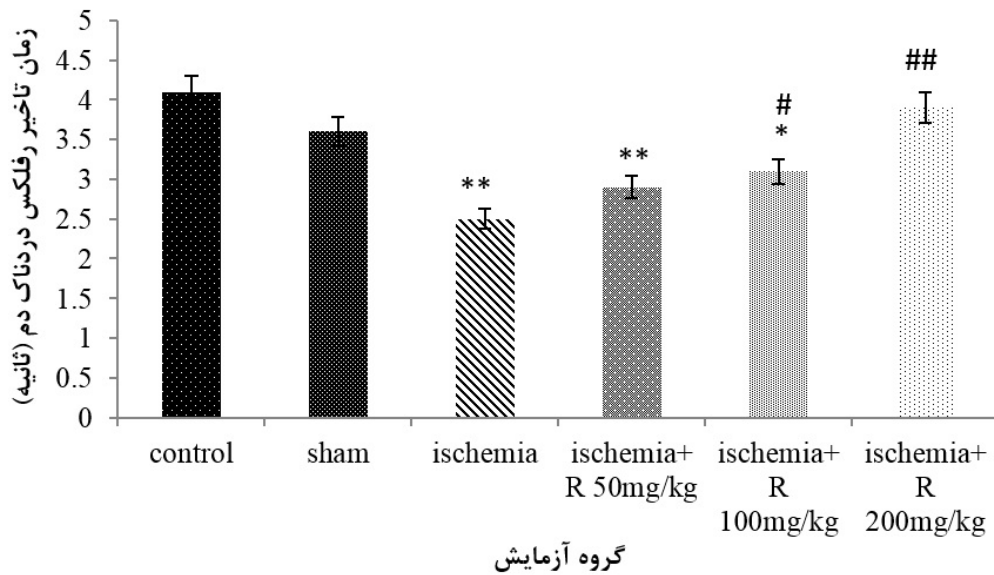
تأخیر ظهور رفلکس دردناک دم)، در حیوانات ایسکمی شده در مقایسه با گروه کنترل مشاهده می‌شود ($P < 0/01$). همچنین این نمودار نشان می‌دهد که زمان تأخیر در آزمون تیل فیلک در گروه تحت تیمار با عصاره هیدروالکلی تمشک (۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) در مقایسه با گروه ایسکمی افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد ($P < 0/01$) همچنین در گروه تیمار شده با عصاره تمشک (۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) افزایش معنی‌دار به میزان ($P < 0/05$) مشاهده می‌شود. در گروه تیمار شده با میوه تمشک (۱۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) ($P < 0/05$) و (۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) ($P < 0/01$) افزایش معنی‌دار در مقایسه با گروه ایسکمی مشاهده می‌شود. این تفاوت نشان‌دهنده‌ی این است که این عصاره توانسته بر کاهش آستانه‌ی درد مؤثر باشد (نمودار شماره ۲).

حافظه کوتاه‌مدت را در گروه تحت درمان با عصاره‌ی تمشک مشاهده کرد. مقایسه‌ی میانگین زمان تأخیر در نمودار شماره ۱ در بین گروه، نشان می‌دهد که میزان تأخیر اولیه، در گروه حیوانات ایسکمی شده نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P < 0/01$). زمان تأخیر اولیه در گروه شم نسبت به گروه کنترل کاهش یافته اما این زمان معنی‌دار نیست. در گروه آلیزیمی تحت تیمار با عصاره هیدروالکلی تمشک (۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) نسبت به گروه کنترل شده افزایش معنی‌داری مشاهده شد ($P < 0/05$). همچنین در گروه تحت تیمار با عصاره تمشک (۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) نسبت به گروه ایسکمی افزایش معنی‌دار ($P < 0/01$) مشاهده شد (نمودار شماره ۱).
در تست تیل فیلک با مقایسه‌ی زمان تأخیر در آزمون تیل فیلک در نمودار شماره ۲ در پاسخ تأخیری کاهش معنی‌داری



نمودار شماره ۱- مقایسه‌ی یادگیری اجتنابی غیرفعال (زمان تأخیر اولیه درون شاتل باکس) در بین گروه‌های دریافت‌کننده مقادیر مختلف تمشک با گروه ایسکمی و کنترل نمودار برحسب (میانگین \pm انحراف استاندارد) رسم شده است. همانطور که مشاهده می‌شود علامت (*) بیانگر اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل و علامت (#) بیانگر اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه ایسکمی است. R= Raspberry





نمودار شماره ۲- مقایسه‌ی میانگین زمان تأخیر ظهور رفلکس در دناک دم در بین گروه‌های دریافت‌کننده‌ی مقادیر مختلف عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه تمشک با گروه ایسکمی و کنترل. نمودار برحسب (میانگین \pm انحراف معیار از میانگین) رسم شده است. همانطور که مشاهده می‌شود علامت (*) بیانگر اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل و علامت (#) بیانگر اختلاف معنی‌دار با گروه ایسکمی است. R= Raspberry

بحث

جاروب‌کننده رادیکال‌های آزاد (Free radical scavengers) می‌توان ضایعات نوروئی متعاقب آسیب‌های اکسیداتیو را به حداقل رساند [۲۷، ۲۸]. تاکنون اثرات مثبت تعداد زیادی از گیاهان دارویی در جهت تعدیل اثرات زیان بار ایسکمی-خون‌رسانی مجدد نشان داده شده است. در مطالعات مختلف مشاهده شده که گیاهان دارویی و برخی ترکیبات فعال آنها قادرند حجم ضایعه مغزی، ادم مغزی، آسیب نوروئی را کاهش داده و میزان اختلالات حسی، حرکتی و نورولوژیک متعاقب ایسکمی را به حداقل برسانند. به همین منظور جهت بهبود ضایعات ایجاد شده در حیوانات مبتلا به ایسکمی عصاره هیدروالکلی تمشک (۲۰۰، ۱۰۰، ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) به مدت ۱۴ روز به صورت صفاقی به حیوانات تزریق شد. آنتی‌اکسیدان‌ها، یکی از مداخلات درمانی هستند که می‌توانند عوارض ناشی از ایسکمی را در مغز کاهش دهند. در این میان تمشک سرشار از ترکیبات فنلی است. ترکیبات فنلی مثل اسیدهای فنلی، فلاونوئیدها، فلاونول، آنتوسیانین، تانن و اسید آسکوربیک در انواع توت‌ها به مقدار زیادی موجود است و به

نتایج پژوهش حاضر نشان داد، عصاره تمشک آسیب ناشی از ایسکمی مغزی موضعی را به میزان زیادی در موش صحرایی کاهش می‌دهد. ایسکمی مغزی موجب افزایش Reaction Oxygen Species (ROS) و در نتیجه فعال شدن مسیرهایی می‌شود که منجر به مرگ سلولی در نواحی آسیب‌پذیر مغز می‌شود [۲۲، ۲۳]. رادیکال‌های آزاد تولیدشده در جریان فرآیند ایسکمی/خون‌رسانی مجدد با آسیب رساندن به نورون‌های ناحیه هیپوکامپ باعث اختلال در یادگیری و حافظه‌ی احترازی و کوتاه مدت می‌شوند [۲۴]. در سال ۲۰۰۰ Hong و همکاران چنین بیان نمودند که که القای ایسکمی در موش‌های صحرایی میزان مرگ سلولی در قشر گیجگاهی هیپوکامپ را افزایش داده و در نهایت منجر به اختلالات حافظه و یادگیری را ایجاد می‌شود [۲۵]. افزایش فاکتورهای التهابی مانند سیتوکاین‌ها و کموکین‌ها به دنبال آسیب ایسکمیک در سیستم عصبی مرکزی سبب القای احساس درد در بیماران می‌شود [۲۶]. امروزه با استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و



بررسی قرار دادند. عصاره آبی و الکلی گیاه نوروزک عمدتاً حاوی ساپونین و تانن می‌باشد. به نظر می‌رسد اثرات عصاره ریشه گیاه نوروزک در مهار پراکسیداسیون لیپید و احتمالاً اثرات ضدایسکمیک آن نیز به علت وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدان و مهارکننده رادیکال‌های آزاد می‌باشد. نوروزک دارای اثرات متعدد آنتی‌اکسیدان، انبساط عروقی، کاهش تولید NO و کاهش رهاسازی گلوتامات است [۳۶]، که این اثرات می‌توانند تا حدودی توجیه‌کننده اثرات محافظتی این گیاه در برابر حوادث ایسکمیک باشند. در تحقیقی دیگر که توسط Setorki و همکاران در سال ۲۰۱۶ صورت گرفت نشان دادند که عصاره هیدروالکلی گل بابونه اثرات ترمیمی بر نقصان حافظه ایجاد شده توسط ایسکمی دارد و ممکن است علائم درد را در بیماران درگیر کاهش دهد. تأثیر بهبود دهندگی حافظه عصاره بابونه ممکن است به دلیل خاصیت پاک‌کنندگی رادیکال‌های آزاد باشد که توسط ترکیبات فعال موجود در عصاره ایجاد شده است [۳۷]. با توجه به تحقیقات انجام شده توسط دانشمندان مختلف و مقایسه‌ی نتایج به دست آمده با تحقیقات ما چنین نتیجه‌گیری می‌شود که عصاره تمشک به دلیل دارا بودن اثرات ضدالتهابی، آنتی‌اکسیدانی، کاهنده‌ی استرس اکسیداتیو احتمالاً درد ناشی از ایسکمی القا شده را کاهش دهد و در بهبود حافظه و یادگیری مؤثر باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که عصاره هیدروالکلی میوه‌ی تمشک دارای اثرات ترمیمی بر نقصان حافظه ایجاد شده توسط ایسکمی دارد و ممکن است علائم درد را در بیماران درگیر کاهش دهد. تأثیر بهبود دهندگی حافظه عصاره تمشک ممکن است به دلیل خاصیت خواص آنتی‌اکسیدانی، پاک‌کنندگی رادیکال‌های آزاد باشد که توسط ترکیبات فعال موجود در عصاره ایجاد شده است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از مساعدت‌های بهینه مرکز علوم و تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه در راستای حمایت از

عنوان آنتی‌اکسیدان قوی می‌تواند در پیشگیری از بیماری‌های التهابی، بیماری‌های قلبی - عروقی کمک کند و یا با دارا بودن اثرات حفاظتی ابتلا به سرطان‌های مختلف را کاهش دهد [۲۹]. مطالعات نشان می‌دهد که گیاه تمشک حاوی ترکیباتی با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی از جمله انواع آنتی‌اکسیدان‌ها (نووکسانتین، ویولاکسانتین، بتا کاروتن، لوتین) و آنتوسیانین (مانند سیانیدین-۳- گلوکوزید، سیانیدین-۳- زایلوزید، سیانیدین-۳- روتینوزید، سیانیدین-۳- ملونیل گلوکوزید و سیانیدین-۳- دی اگزایل گلوکوزید) ویتامین C، فلاونوئید و ترکیبات فنولی (مانند اسید الاژیک، کاتچین، اپی‌کاتچین، روتین، کوئرستین، اسید کافئیک، اسید P- کوماریک) و مواد معدنی (مانند کلسیم، آهن، منیزیم، فسفر، پتاسیم، روی، منگنز و سلنیوم) می‌باشد [۳۰-۳۲]. بنابراین با توجه به توضیحات فوق، می‌توان نتیجه گرفت که ترکیبات هیدروالکلی عصاره میوه‌ی تمشک اثرات ضدالتهابی را با اثر بر روی مکانیسم‌های التهابی و اعمال اثرات ضد التهابی و مهار آنزیم‌های درگیر در این مسیر مانند لیپواکسیژناز و سیکلو اکسیژناز سرکوب می‌کند. به طور مشابه کاهش استرس اکسیداتیو را به دلیل دارا بودن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی این عصاره منجر می‌شود [۱۶]. Tavares و همکاران در سال ۲۰۱۳ گزارش کردند که تمشک وحشی اثرات محافظت از اعصاب را توسط کاهش سطح ROS داخل سلولی، تعدیل سطح گلوتاتیون، و مهار وقوع کاسپاز را در طول درمان نشان می‌دهد. این اثرات محافظت از سلول‌های عصبی در برابر آسیب اکسیداتیو، یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های تمشک وحشی در برابر تخریب نرون‌هاست. در مطالعات آزمایشگاهی گزارش شده است که تمشک اثرات ضد التهابی قوی و خواص ضدتکثیری دارد [۳۳، ۳۴]. Kim و همکاران در سال ۲۰۱۳ اثر ضد التهابی و ضد باکتریایی عصاره تمشک را مورد بررسی قرار داده و چنین بیان نمودند که عصاره‌ی تمشک باعث کاهش سطح سایتوکاین‌های پیش‌برنده‌ی التهاب (IL-1، IL-6 و IL-10) و پروستاگاندین‌ها می‌شود [۳۵]. صادق‌نیا و همکاران اثر عصاره ریشه گیاه نوروزک بر روی میزان لیپیدهای پراکسیداسیون در جریان ایسکمی فراگیر مغزی در رت را مورد



منابع

- Zhang S, Qi Y, Xu Y, Han X, Peng J, Liu K and et al. Protective effect of flavonoid-rich extract from *Rosa laevigata* Michx on cerebral ischemia-reperfusion injury through suppression of apoptosis and inflammation. *Neurochem Int* 2013; 63 (5): 522-32.
- Dirnagl U, Iadecola C and Moskowitz MA. Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view. *Trends Neurosci.* 1999; 22 (9): 391-7.
- Fagan SC, Hess DC, Hohnadel EJ, Pollock DM and Ergul A. Targets for vascular protection after acute ischemic stroke. *Stroke* 2004; 35 (9): 2220-5.
- Hussein AA, El-Dken ZH, Barakat N and Abol-Enein H. Renal ischaemia/reperfusion injury: possible role of aquaporins. *Acta Physiol (Oxf)* 2012; 204 (3): 308 - 16.2.
- Alaluf S, Muir-Howie H, Hu HL, Evans A and Green MR. Atmospheric oxygen accelerates the induction of a post-mitotic phenotype in human dermal fibroblasts: the key protective role of glutathione. *Differentiation* 2000; 66: 147-55.
- Kern JC, Kehrer JP. Free radicals and apoptosis: relationships with glutathione, thioredoxin, and the BCL family of proteins. *Front Biosci* 2005; 10: 1727-38.
- ElKossi MM, Zakhary MM. Oxidative stress in the context of acute cerebrovascular stroke. *Stroke* 2000; 31 (8): 1889-92.
- Palizvan M, Khademi Sh, Gazavi A. Corellation of two way active avoidance learning with nitric oxide and ferric reduction/ antioxidant power in rats. *Journal of Arak University of Medical Science* 2007; 9 (4): 1-8.
- Vokó Z, Hollander M, Hofman A, Koudstaal PJ and Breteler MB. Dietary antioxidants and the risk of ischemic stroke the roterdam study. *Neurology* 2003; 61 (9): 1273-1275.
- Chen H, Yoshioka H, Kim GS, Jung JE, Okami N, Sakata H and et al. Oxidative stress in ischemic brain damage: Mechanisms of cell death and potential molecular targets for neuroprotection. *Antioxid Redox Signal* 2011; 14 (8): 1505-17.
- Zia-Ul-Haq M, Riaz M, De Feo V, Jaafar HZ and Moga M. *Rubus fruticosus* L.: Constituents, Biological Activities and Health Related Uses. *Molecules* 2014; 19(8):10998-1029.
- Dai J, Patel JD and Mumper RJ. Characterization of Blackberry Extract and its Anti-proliferative and Anti-inflammatory Properties. *J. Med. Food* 2007; 10 (2): 258-65.
- Rameshwar V, Tushar G, Rakesh P and Chetan G. *Rubus fruticosus* (blackberry) use as an herbal medicine. *Pharmacogn Rev* 2014; 8 (16): 101-104.
- Cho MJ, Howard LR, Prior, RL and Clark JR. Flavonol glycosides and antioxidant capacity of various blackberry and blueberry genotypes determined by high performance liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2004; 84: 1771-1782.
- Zafra-Stone S, Yasmin T, Bagchi M, Chatterjee A, Vinson JA and Bagchi D. Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention. *Mol. Nutr. Food Res.* 2007; 51: 675 - 83.
- Gomar A, Hosseini A and Mirazi N. Preventive Effect of *Rubus fruticosus* on Learning and Memory Impairment in an Experimental Model of Diabetic Neuropathy in Male Rats. *Pharma Nutrition* 2014; 2 (4): 155 - 60.
- Su L, Yin JJ, Charles D, Zhou K, Moore J and



- Yu L. Total phenolic contents chelating capacities and radical scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf. *Food Chemistry* 2007; 100: 990-7.
- 18.** Tamburella A, Micale V, Mazzola C, Salomone S and Drago F. The selective norepinephrine reuptake inhibitor atomoxetine counteracts behavioral impairments in trimethyltin-intoxicated rats. *Eur. J. Pharmacol.* 2012; 683: 148-54.
- 19.** Rafieirad M and Valipour Chardahcherik S. Gallic acid improves the memory and pain in diabetic rats. *Yafteh* 2013; 15: 33-41.
- 20.** Sarkaki A, Rafieirad M, Hossini E, Farbood Y, Mansouri MT and Motamedi F. Cognitive deficiency induced by cerebral hypoperfusion/ischemia improves by exercise and grape seed extract. *Health MED J.* 2012; 6: 1097-105.
- 21.** D'Amour F and Smith D. A method of determining loss of pain sensation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1941; 27: 74 - 7.
- 22.** Bhardwaj A, Alkayed NJ, Kirsch JR and et al. Mechanisms of ischemic brain damage. *Curr. Cardiol. Rep.* 2003; 5: 160-7.
- 23.** Rabiei Z, Bigdeli MR and Asadi M. The Effect of dietary virgin olive oil on brain lipid levels and brain edema in rat stroke models. *J. Zanjan Univ. Med. Sci.* 2013; 21: 56-64.
- 24.** Warner DS, Sheng H and Batinic-Haberle I. Oxidants, antioxidants and the ischemic brain. *J. Exp. Biol.* 2004; 207 (18): 3221-31.
- 25.** Hong JT, Ryu SR, Kim HJ, Lee JK, Lee SH, Kim DB and et al. Neuroprotective effect of green tea extract in experimental ischemia-reperfusion brain injury. *Brain Res. Bull.* 2000; 53 (6): 743-9.
- 26.** Minami M, Katayama T and Satoh M. Brain cytokines and chemokines: roles in ischemic injury and pain. *J. Pharmacol. Sci.* 2006; 100 (5): 461-70
- 27.** Wang Q, Xu J, Rottinghaus GE, Simonyi A, Lubahn D, Sun GY and Sun AY. Resveratrol protects against global cerebral ischemic injury in gerbils. *Brain Res.* 2002; 958: 439-47.
- 28.** Calapai G, Crupi A, Firenzuoli F, Marciano MC, Squadrito F, Infereera G, Parisi A, Rizzo A, Crisafulli C, Fiore A and Caputi AP. Neuroprotective effects of Ginko biloba extract in brain ischemia are mediated by inhibition of nitricoxide synthesis. *Life Sci.* 2000; 67: 2673-83.
- 29.** Sona S, Daniela S, Jiri M, Tunde J and Jiri S. Bioactive Compounds and Antioxidant Activity in Different Types of Berries. *Int. J. Mol. Sci.* 2015; 16: 24673-24706.
- 30.** Zia-Ul-Haq M, Riaz M, De Feo V, Jaafar HZ and Moga M. *Rubus fruticosus* L.: Constituents, Biological Activities and Health Related Uses. *Molecules* 2014; 19 (8): 10998-1029.
- 31.** Zhang YL, Xu JM, Zhou P, Zhong XL and Dai RP. Distinct Activation of Tumor Necrosis Factor-Alpha and Interleukin-6 in the Spinal Cord after Surgical Incision in Rrats. *Mol. Med. Report.* 2012; 5 (6): 1423-7.
- 32.** Keshavarz M, Hasanain P, Parviz M, Mansoori M, Soltani N and Mirazi N. Oral Magnesium Sulfate in Prevention of Diabetic Neuropathy in Mice. *Tehran Univ. Med. J.* 2006; 64 (6): 37-45.
- 33.** Tavares L, Figueira I, McDougall GJ, Vieira HL, Stewart D, Alves PM, Ferreira RB and Santos CN. Neuroprotective effects of digested polyphenols from wild blackberry species. *Eur. J. Nutr.* 2013; 52: 225-236.
- 34.** Wang SY and Jiao H. Scavenging capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals, and singlet oxygen. *J. Agric. Food Chem.* 2000; 48: 5677-5684.
- 35.** Kim SK, Kim H, Kim SA, Park HK and Kim W. Anti-Inflammatory and Anti-Super bacterial Activity of Poiyphenols Isolated from Blak Raspberry. *Korean J. Physiol. Pharmacol.* 2013; 17: 73-9.
- 36.** Hamidreza SN, Marjan NA, Mohammad hossein HKH and Hossein HZ. The effect of



extract *Salvia Leriifolia* On lipid peroxidation level during Global Cerebral Ischemia in Rat. *Journal of Medicinal Plants* 2003; 2: 19-28.

37. Setorki M, Moshfeqh A and Raoufi N. Effect of hydroalcoholic extract of *Matricaria chamomilla*

on passive avoidance memory and pain induced by global cerebral ischemia in Wistar rat. *Journal of Shahrekord University of Medical Sciences. J Shahrekord Univ. Med. Sci.* 2016; 17: 76-86.



The Effects of Hydroalcoholic Extract of Raspberry fruit on Pain and Passive Avoidance Memory Following Transient Global Ischemia/Reperfusion in Wistar Rats

Mohammadi Mehdiabadihassani MH (MS.c.)¹, Moradi M (Ph.D. student)², Khoshnam E (Ph.D. student)², Mohammadi SH (Ph.D. student)^{3*}

1- Department of Animal Biology, Faculty of Biological Sciences, Karazmi University, Tehran, Iran

2- Physiology Department, Physiology Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

3- Neuroscience Department, School of Advanced Technologies in Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

*Corresponding author Neuroscience Department, School of Advanced Medical Technologies, Tehran University of Medical Sciences, /Ghods Street, Italia St.

Tel: +98-21-43052000, Fax: +98-21-88991117

E-mail: shimamohamadi1365@gmail.com

Abstract

Background: Brain ischemia is one of the leading causes of death and physical disability worldwide. Flavonoids found in Raspberry fruit (RF) play an important role against oxidative stress injuries in the biological systems.

Objective: The present study was carried out to evaluate the effect of RF on ischemia/reperfusion (I/R)-induced brain injury in rats.

Methods: In the present experimental study, 42 wistar adult male rats weighing 200–250 g were divided into six groups as sham operated (Sh), ischemia/reperfusion (I/R) received normal saline (I+Veh), I/R groups treated with RF extract (I+RF, 50, 100, or 200 mg/kg, IP, respectively). The global cerebral I/R was induced by occluding bilateral common carotid arteries for 30 min, followed by reperfusion. Behavioral test performed with shuttle box and analgesia test performed with tail flick test.

Results: Administration of RF extract 50, 100, or 200 mg/kg doses increased passive avoidance memory significantly ($P<0.05$). In addition, RF extract delayed the emergence of painful reflex in tail flick test significantly ($P<0.05$).

Conclusion: Results of this study showed that RF extract possesses protective effects against pain and memory deficits induced by I/R, which may be due to its anti-inflammatory and antioxidant effects.

Keywords: Cerebral Ischemia/Reperfusion, Memory, Pain, Raspberry Fruit

