

## اثر تزریق روغن کنجد در ناحیه $CA_1$ هیپوکامپ بر یادگیری و حافظه فضایی و تداخل آن با استروپیدهای جنسی در موش‌های صحرایی نر

ریحانه هویدا<sup>۱\*</sup>، احمد علی معاضدی<sup>۲</sup>، عبدالرحمان راسخ<sup>۳</sup>

### خلاصه

سابقه و هدف: روغن کنجد یکی از روغن‌های گیاهی است که استفاده آن در طب سنتی قدمت دیرینه دارد. شواهد نشان می‌دهند که اسیدهای چرب غیرابشاع فرآیندهای یادگیری و حافظه را تعدیل می‌نمایند. در این مطالعه، اثر تزریق روغن کنجد در ناحیه  $CA_1$  هیپوکامپ بر یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرایی نر بالغ (سالم و اخته) مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: حیوان‌ها به طور تصادفی به ۶ گروه (در هر گروه ۷ سر) تقسیم شدند، ۳ گروه سالم و ۳ گروه اخته شده که همه گروه‌ها در ناحیه  $CA_1$  هیپوکامپ کانول گذاری شدند و عبارت بودند از: گروه‌های کنترل سالم و اخته شده که هیچ‌گونه تزریقی نداشتند، گروه‌های شاهد سالم و اخته شده که سرم فیزیولوژی و گروه‌های سالم و اخته روغن کنجد که به مدت ۵ روز هر روز بلافاصله قبل از آموزش به ترتیب ۵/۰ میکرولیتر سرم فیزیولوژی و روغن کنجد به صورت دو طرفه در ناحیه  $CA_1$  هیپوکامپ دریافت می‌کردند، و سپس به مدت ۵ روز و هر روز ۳۰ بار توسط ماز ۷ آموزش می‌دیدند. همه گروه‌ها پس از یک ماه مجدداً برای آزمون حافظه یک جلسه در دستگاه قرار می‌گرفتند.

یافته‌ها: تجزیه و تحلیل آماری نشان می‌دهد که روغن کنجد در حضور و عدم حضور غدد جنسی باعث افزایش یادگیری شده، اما در حضور غدد جنسی در میزان حافظه، یک ماه بعد، تغییری ایجاد نکرده است. همچنین عدم حضور غدد جنسی تأثیری در میزان حافظه ناشی از روغن کنجد در مقایسه با حضور غدد جنسی نداشته است.

نتیجه‌گیری: بنابراین به نظر می‌رسد که روغن کنجد باعث بهبود فرآیند یادگیری می‌گردد، علاوه بر این احتمالاً این روغن برای اعمال اثرات بهبود دهنده‌گی خود بر حافظه با هورمون‌های جنسی تداخل عمل دارد.

واژه‌های کلیدی: یادگیری و حافظه فضایی، روغن کنجد، ناحیه  $CA_1$  هیپوکامپ، اخته کردن

### مقدمه

ساختار غشاء سلول‌ها نیز شرکت می‌کنند که مورد اخیر از اهمیت خاصی برخوردار است. از طرف دیگر کلسترونول بیشتر در چربی‌های حیوانی وجود دارد و در مواد غذایی با منشأ گیاهی کمتر دیده می‌شود [۱].

یکی از مهم‌ترین منابع غذایی انسان چربی‌ها هستند. چربی‌ها به طور عمده از نظر منشاء به دو دسته حیوانی و گیاهی تقسیم می‌شوند. به طور کلی چربی‌ها علاوه بر تأمین انرژی و رساندن ویتامین‌های محلول در چربی به بدن، در

۱- کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز (نویسنده مسئول)

۲- دانشیار نوروفیزیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز

۳- استادیار گروه آمار، دانشکده علوم ریاضی و کامپیوتر، دانشگاه شهید چمران اهواز

اسید استثاریک (۰.۴٪) می‌باشد. علاوه بر این روغن کنجد حاوی ۱٪ فسفاتیدیل کولین (لیتین) نیز می‌باشد [۴،۱۹].

روغن کنجد به عنوان نرم کننده پوست و تسکین دهنده التهاب پوست، داشتن خاصیت مسهله‌ی و همچنین برای معالجه تنگی نفس، انسداد و خراش حلق، تشنج و برطرف کردن ورم چشم و همچنین به منظور رفع میگرن و سرگیجه به صورت مالش به سر توصیه شده است [۰،۱۰،۱۴،۱۷]. علاوه بر این گزارش شده است روغن کنجد باعث رشد سریع تخمک‌ها و فعالیت زیاد تخمدان همراه با رشد و تکثیر شدید سلول‌های ترشحی مژکدار لوله‌های تخم بر و جسم رحم و نیز تشکیل اجسام زرد می‌گردد [۳]. روغن کنجد دارای ۵۰۰-۷۰۰ میلی‌گرم توکوفرول یا ویتامین E و خصوصاً گاما-توكوفرول می‌باشد [۲۵]. وجود توکوفرول‌های روغن کنجد نوعی سد دفاعی در برابر آسیب غشایی ناشی از ریشه‌های آزاد اسیدهای چرب غیر اشباع روغن کنجد ایجاد می‌کند [۸]. روغن کنجد قادر است لیپوپروتئین‌ها با چگالی پائین (LDL) را کاهش دهد. علاوه بر این اسید اولئیک موجود در روغن کنجد باعث افزایش لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا (HDL) می‌شود. لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا باعث جذب بیشتر و انتقال سریع‌تر کلسترول از سلول‌های بدن به کبد و در نتیجه کاهش کلسترول خون می‌شود [۱۳]. علاوه بر این کلسترول یکی از عوامل کاهش دهنده سیالیت غشا می‌باشد [۳۹] و تغییر در سیالیت غشا به ویژه در ناحیه هیپوکامپی که از ناحیه مهم شرکت کننده در فرآیند یادگیری فضایی است می‌تواند یادگیری را تعديل بخشد [۴۱].

روغن کنجد علاوه بر دارابودن چربی‌های غیر اشباع و اجد لیتین نیز می‌باشد که وجود آن برای سلامت اعصاب لازم است [۵]. نتایج تحقیقات قبلی نیز نشان داده‌اند که تزریق داخل عضلانی روغن کنجد باعث افزایش یادگیری فضایی گردیده است. بنابراین در پژوهش حاضر اثر تزریق روغن کنجد در ناحیه CA1 هیپوکامپ (به صورت دو طرفه) بر یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرایی نر بالغ در حضور و عدم حضور غدد جنسی با استفاده از دستگاه ماز Y مورد بررسی قرار گرفت.

با توجه به اینکه اجزای تشکیل دهنده روغن‌های گیاهی عمدتاً اسیدهای چرب غیر اشباع هستند و این اسیدهای چرب غیر اشباع در روندهای متابولیکی مختلف بدن نقش مهمی ایفا می‌کنند و با توجه به نقش سایر ترکیبات موجود در این روغن‌ها و مصرف رو به گسترش آن‌ها مطالعه درباره آثار احتمالی آن‌ها ضروری به نظر میرسد. دانه‌های روغنی همچون سویا، ذرت و کنجد سرشار از اسیدهای چرب و اجد چند پیوند دوگانه می‌باشند [۲۳].

کنجد یکی از دانه‌های روغنی است که از گیاهی یک‌ساله و به ارتفاع یک متر بنام سزاموم ایندیکوم از تیره پدالیاسه بدست می‌آید. دانه کنجد صاف، بیضی شکل و زرد مایل به قهوه‌ای است و دارای مزه شیرین روغنی می‌باشد. این دانه محتوی ۴۵-۵۵ درصد روغن ثابت می‌باشد. روغن کنجد، روغن تصفیه شده ثابتی است که از این دانه بدست می‌آید [۱]. روغن کنجد دارای رنگ زرد کمرنگ، فاقد بو و دارای مزه مطبوع می‌باشد و در سرمای ۴ درجه سانتی گراد به صورت یک توده کرم‌های سفت می‌شود [۲۹]. روغن کنجد یکی از موادی است که در طب سنتی قدمتی دیرینه دارد. نوع مرغوب روغن کنجد به مصرف خوراکی می‌رسد. در اروپا و آمریکای شمالی به میزان زیاد برای تولید مارگارین و روغن‌های خوراکی با کیفیت‌های بالا مصرف می‌شود. اشخاصی که معتقد به مصرف روغن با کلسترول خیلی کم هستند و رژیم کاهش کلسترول دارند، روغن کنجد مصرف می‌کنند. این امر موجب مصرف زیاد روغن کنجد در دنیا شده است [۱۰]. به علت پایداری زیاد روغن کنجد، در داروسازی از آن به عنوان یک حل مفید و حامل مناسب در ساخت محصولات روغنی، لوازم آرایشی، روغن‌های اشباع از ید و داروهای قابل حل در روغن و در ساخت برخی استروئیدهای معین استفاده می‌شود همچنین در ساخت لینمانها، پلاستر، پماد و صابون استفاده می‌شود [۳۴]. اسیدهای چرب تشکیل دهنده آن شامل اسید اولئیک (۰.۴۳٪)، اسید لینولئیک (۰.۴۳٪)، اسید پالمیک (۰.۹٪) و

آموزش توسط دستگاه ماز ۷<sup>۰</sup> (ساخت شرکت پویش پرداز تهران) صورت گرفت. هر روز قبل از آموزش تزریق مواد از طریق کانول‌ها به ناحیه CA1 هیپوکامپ انجام می‌گرفت. عمل تزریق از طریق یک سر سوزن شماره ۲۷ دندانپزشکی (ساخت شرکت بایر آلمان) که به وسیله یک لوله پلی‌اتیلن به طول ۱۵ سانتی‌متر به سرنگ هامیلتون ۱۰ میکرولیتری (ساخت سوییس) متصل شده بود صورت می‌گرفت. سر سوزن (ساخت سوییس) متصل شده بود صورت می‌گرفت. سر سوزن تزریق به طول مشخصی بریده می‌شد تا هنگامی که داخل کانول قرار می‌گیرد در حدود ۵/۰ میلی‌متر از سر کانول بیرون بیاید و به راحتی مواد در ناحیه مورد نظر تزریق و منتشر شود. هر تزریق به آرامی و در طول ۱ دقیقه صورت گرفت. در این مطالعه در قسمت اول آزمایش‌ها، حیوان‌ها تحت عملیات کانول‌گذاری قرار می‌گرفتند و پس از طی یک هفته دوره بهبودی به طور تصادفی به ۳ گروه (n=۷) تقسیم شدند:

- گروه کنترل که تنها تحت عملیات کانول‌گذاری قرار گرفتند و پس از دوره بهبودی به مدت ۵ روز با دستگاه ماز ۷ تحت آموزش قرار گرفتند.
- گروه حلال سرم فیزیولوژی که هر روز بلافارسله قبل از آموزش ۵/۰ میکرولیتر سرم فیزیولوژی به صورت دو طرفه ناحیه CA1 هیپوکامپ دریافت می‌کردند.
- گروه روغن کنجد که هر روز بلافارسله قبل از آموزش ۵/۰ میکرولیتر روغن کنجد به صورت دو طرفه ناحیه CA1 هیپوکامپ دریافت می‌کردند.

در قسمت دوم آزمایش‌ها ابتدا حیوان‌ها تحت عملیات جراحی برای حذف غدد جنسی و سپس عملیات کانول‌گذاری به صورت دو طرفه در ناحیه CA1 هیپوکامپ قرار می‌گرفتند و پس از طی دوره بهبودی به طور تصادفی در ۳ گروه (n=۷) تقسیم می‌شدند:

- گروه کنترل که تنها تحت عملیات تستکتومی و کانول‌گذاری قرار می‌گرفتند و پس از طی دوره بهبودی به مدت ۵ روز با دستگاه ماز ۷ تحت آموزش بودند.
- گروه حلال سرم فیزیولوژی که هر روز بلافارسله قبل از آموزش ۵/۰ میکرولیتر سرم فیزیولوژی به صورت دو طرفه ناحیه CA1 هیپوکامپ دریافت می‌کردند.

2- Y-maze

## مواد و روش‌ها

این مطالعه یک پژوهش تجربی است که بر روی موش‌های صحرایی نر بالغ، نژاد N-MAR در محدوده وزنی ۱۹۰±۲۰ گرم انجام شده است. حیوان‌ها قبل از جراحی در گروه‌های ۷ تایی و پس از جراحی به طور انفرادی در قفس نگهداری می‌شوند. محل نگهداری حیوان‌ها دارای دوره تاریکی - روشنایی ۱۲ ساعته و دمای ۲۳±۲ درجه سانتیگراد بود. آب و غذا به مقدار کافی در اختیار حیوان‌ها قرار داشت.

حیوان‌ها قبل از شروع جراحی با داروی کتامین٪ ۱۰ (۷۸mg/kg) ساخت شرکت آلفاسان هلند و گزیلازین٪ ۲ (۳ mg/kg) ساخت شرکت چانل هلند، که با یکدیگر مخلوط شدن و به صورت داخل عضلانی تزریق می‌گردید بی‌هوش شده [۱۱] و سپس تحت عملیات جراحی برای کانول‌گذاری [۱۲] یا حذف غدد جنسی (تستکتومی) قرار گرفتند [۱۴]. برای کانول‌گذاری از دستگاه استریووتاکسی ساخت شرکت استولتینگ آمریکا استفاده شد. کانول‌های مورد استفاده عبارت بودند از سرسوزن‌های شماره ۲۱ که پس از آماده شدن به صورت دو طرفه در ناحیه CA1 هیپوکامپ قرار می‌گرفتند. مختصات مورد استفاده طبق اطلس پاکسینوس و واتسون<sup>۱</sup> عبارت بودند از: AP= -۳/۸mm از برگما، ML= ±۲/۲ mm از خط وسط و DV= -۲/۴mm از سطح سخت شامه [۳۲] (در موارد لزوم ضریب تصحیح نیز بکار برده می‌شد). میله دندانی ۳/۳ میلی‌متر زیر صفر افقی قرار داشت تا مطابق اطلس وضعیت صاف جمجمه حاصل گردد. کانول‌ها توسط سیمان دندانپزشکی (ساخت شرکت صنایع پزشکی مارلیک) و پیچ‌های کوچک عینک بر روی جمجمه ثابت می‌شدند. یک هفته پس از جراحی و طی دوره بهبودی تزریق روغن کنجد و یا سرم فیزیولوژی و آزمایش‌های رفتاری آغاز می‌گردید. در گروه‌هایی که نیاز به حذف غدد جنسی بود حیوان‌ها علاوه بر کانول‌گذاری تحت عمل جراحی برای برداشتن بیضه‌ها قرار می‌گرفتند که این عمل جراحی نیز تحت شرایط کاملاً استریل صورت می‌گرفت.

1- Paxinos&amp;Watson

**روش آماری:** به منظور مقایسه داده‌های بدست آمده از طرح اندازه‌گیری مکرر یک طرفه و آزمون‌های حداقل تفاوت معنی‌دار (L.S.D)، آنالیز واریانس یک‌طرفه، آزمون  $t$  زوج شده و آزمون  $t$  مستقل موجود در نرم افزار SPSS استفاده گردید. داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد میانگین نمایش داده شده است. سطح معنی‌داری برای یادگیری نمایش داده شده است. برای حافظه شده و برای رسم نمودارها از نرم افزار EXEL استفاده گردید.

## نتایج

در بررسی اثر تزریق داخل هیپوکامپی روغن کنجد بر یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرایی نر بالغ در حضور غدد جنسی تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از طرح اندازه‌گیری مکرر یک طرفه نشان داد که به طور کلی بین گروه‌های کنترل، شاهد سرم فیزیولوژی و آزمایش روغن کنجد تفاوت معنی دار وجود دارد ( $p < 0.05$ ) و مقایسه گروه‌های مذکور در ۵ روز متوالی آموزش نیز با استفاده از طرح تصادفی یک طرفه آنالیز واریانس و متعاقب آن آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار<sup>۳</sup> نشان داد که بین گروه‌های کنترل و شاهد سرم فیزیولوژی در روزهای سوم و چهارم ( $p < 0.05$ ) و پنجم ( $p < 0.01$ ) تفاوت معنی دار وجود دارد. بین گروه‌های شاهد سرم فیزیولوژی و آزمایش روغن کنجد در روزهای دوم تا چهارم تفاوت معنی دار وجود دارد ( $p < 0.05$ )، یعنی در گروه روغن کنجد یادگیری افزایش یافته است (جدول ۱). نتایج مقایسه آماری در مورد آزمون حافظه با استفاده از آزمون  $t$  زوج شده نیز نشان می‌دهد که در هیچ کدام از گروه‌های کنترل، شاهد سرم فیزیولوژی و آزمایش روغن کنجد تفاوت معنی‌داری بین میانگین تعداد پاسخ صحیح روز پنجم آموزش و آزمون حافظه یک ماه بعد وجود ندارد (جدول ۲).

۳- گروه روغن کنجد که هر روز بلافضله قبل از آموزش ۵/۰ میکرولیتر روغن کنجد به صورت دو طرفه ناحیه CA1 هیپوکامپ دریافت می‌کردند [۱۴].

به منظور انجام تست حافظه همه گروه‌های مذکور پس از یک ماه، یک جلسه در دستگاه ماز  $Z$  قرار گرفته و آزمون حافظه می‌شدند و نتایج آن با روز پنجم آموزش مقایسه می‌گردید.

**دستگاه ماز  $Z$ :** برای دست یابی به روند یادگیری و حافظه در مدل‌های آزمایشگاهی مازهای متنوعی به کار گرفته می‌شوند که عمدتاً براساس دو روش تنبیه (دریافت شوک یا احساس ناخوشایند) و تشویق (دریافت پاداش مثل آب و غذا) طراحی شده‌اند. با توجه به تداخل احتمالی برخی داروها در مکانیسم اشتها، به نظر می‌رسد برای بررسی تأثیر داروها بر روند یادگیری، روش تنبیه مناسب‌تر می‌باشد و با توجه به این که هیپوکامپ در حافظه فضایی نقش عمدت‌های دارد در این تحقیق از دستگاه ماز  $Z$ ، که برای بررسی یادگیری و حافظه فضایی طراحی شده است، استفاده گردید.

**روش ارزیابی یادگیری و حافظه:** دستگاه باید در یک محیط تاریک، آرام و بی‌سر و صدا قرار گیرد. در روز اول آموزش ابتدا حیوان را در ماز قرارداده و ۱۵ دقیقه اجازه داده می‌شود تا آزادانه درون ماز حرکت کند و با شکل ظاهری ماز آشنا شود، سپس آموزش از بازویی شروع می‌شود که حیوان در آن قرار دارد. انتخاب بازوها براساس جدول تصادفی صورت می‌گیرد. با فشار دادن یک دکمه روی دستگاه کنترل، چراغ یکی از بازوهای ماز روشن می‌شود و در فاصله زمانی کوتاه (۵ ثانیه) موش فرصت دارد تا از محل تاریک خارج شده و به بازوی روشن برود در این صورت اگر موش به بازوی روشن برود انتخاب صحیح محسوب می‌شود. در غیر این صورت انتخاب غلط محسوب می‌شود. براساس جدول تصادفی در هر روز به هر موش ۳۰ بار آموزش داده می‌شود و در پایان هر جلسه تعداد پاسخ صحیح<sup>۱</sup> محاسبه می‌گردد، جلسات آموزش به مدت ۵ روز متوالی ادامه می‌یافتد تا موش‌ها به معیار پاسخ صحیح<sup>۲</sup> بررسند یعنی از ۳۰ بار آموزش در روز حداقل ۲۶ بار انتخاب صحیح بنمایند [۹].

1- correct response number

2- correct response critteria

جدول ۱: مقایسه میانگین تعداد پاسخ صحیح (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد میانگین) گروههای مختلف در بررسی اثر تزریق داخل ناحیه CA1 هیپوکامپ روغن کنجد بر یادگیری فضایی در حضور و عدم حضور غدد جنسی

روز پنجم	روز چهارم	روز سوم	روز دوم	روز اول	روزها		گروهها
					در حضور غدد جنسی	در عدم حضور غدد جنسی	
۲۹/۷۱ $\pm$ ۰/۱۸**	۲۷/۲۸ $\pm$ ۰/۷۱*	۲۶/۰۰ $\pm$ ۰/۷۹*	۲۳/۱۴ $\pm$ ۱/۴۴	۱۵/۷۱ $\pm$ ۲/۱۱	در حضور غدد جنسی	در عدم حضور غدد جنسی	گروه کنترل
۲۹/۵۷ $\pm$ ۰/۳۰**	۲۹/۰۰ $\pm$ ۰/۴۴*	۲۸/۴۲ $\pm$ ۰/۵۷*	۲۵/۷۱ $\pm$ ۱/۰۲	۲۰/۸۵ $\pm$ ۱/۸۴	در حضور غدد جنسی	در عدم حضور غدد جنسی	
۲۸/۲۸ $\pm$ ۰/۴۷*	۲۷/۲۸ $\pm$ ۰/۶۴*	۲۶/۵۷ $\pm$ ۰/۷۸*	۲۳/۵۷ $\pm$ ۰/۹۵*	۱۹/۱۴ $\pm$ ۱/۰۳	در حضور غدد جنسی	در عدم حضور غدد جنسی	گروه روغن کنجد
۲۹/۱۴ $\pm$ ۰/۳۴*	۲۷/۷۱ $\pm$ ۰/۵۷*	۲۶/۱۴ $\pm$ ۰/۹۱*	۲۴/۰۰ $\pm$ ۰/۹۸	۱۹/۱۴ $\pm$ ۱/۴۲	در حضور غدد جنسی	در عدم حضور غدد جنسی	
۲۷/۲۸ $\pm$ ۰/۴۲	۲۵/۴۲ $\pm$ ۰/۵۳	۲۳/۵۷ $\pm$ ۰/۹۰	۲۰/۷۱ $\pm$ ۰/۶۴	۱۸/۰۰ $\pm$ ۰/۸۵	در حضور غدد جنسی	در عدم حضور غدد جنسی	گروه حلال سرم فیزیولوژی
۲۷/۵۷ $\pm$ ۰/۵۳	۲۶/۲۸ $\pm$ ۰/۴۲*	۲۴/۷۱ $\pm$ ۰/۶۸	۱۹/۵۷ $\pm$ ۰/۵۷	۱۷/۵۷ $\pm$ ۰/۶۵	در حضور غدد جنسی	در عدم حضور غدد جنسی	

\*: اختلاف معنی دار بین گروه ها با گروه حلال سرم فیزیولوژی با  $p < 0.05$

\*\*: اختلاف معنی دار بین گروه کنترل با گروه حلال سرم فیزیولوژی با  $p < 0.001$

میانگین پاسخ صحیح روز پنجم آموزش و آزمون حافظه یک ماه بعد اختلاف معنی دار وجود دارد ( $p < 0.05$ ) و بعد از یک ماه حافظه نسبت به روز پنجم کمتر شد، همچنین در گروه شاهد سرم فیزیولوژی نیز تفاوت معنی دار مشاهده گردید است و بعد از یک ماه حافظه نسبت به روز پنجم کمتر شده است ( $p < 0.01$ ). در گروه روغن کنجد نیز تفاوت معنی دار مشاهده گردید و بعد از یک ماه حافظه نسبت به روز پنجم کمتر شد ( $p < 0.05$ ) (جدول ۲).

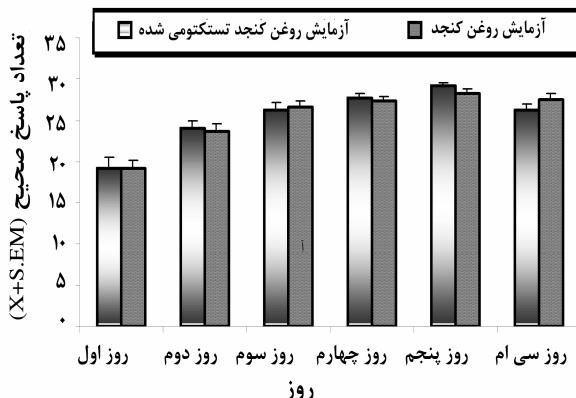
در بررسی اثر تزریق داخل هیپوکامپی روغن کنجد بر یادگیری و حافظه فضایی مושهای صحرایی در عدم حضور غدد جنسی نیز نتایج نشان می دهند که بین گروههای کنترل و شاهد سرم فیزیولوژی در روزهای دوم، سوم، چهارم و پنجم ( $p < 0.01$ ) و پنجم ( $p < 0.001$ ) تفاوت معنی دار وجود دارد (جدول ۱). بین گروههای شاهد سرم فیزیولوژی و آزمایش روغن کنجد در روزهای دوم ( $p < 0.01$ )، چهارم و پنجم ( $p < 0.05$ ) تفاوت معنی دار وجود دارد. نتایج مقایسه آماری در مورد آزمون حافظه نیز نشان داد که در گروه کنترل بین

جدول ۲: مقایسه میانگین تعداد پاسخ صحیح روزهای سی ام (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد میانگین) در بررسی اثر تزریق داخل ناحیه CA1 هیپوکامپ روغن کنجد بر حافظه فضایی در حضور و عدم حضور غدد جنسی

سطح معنی دار	t	میانگین تعداد پاسخ صحیح روز سی ام $\pm$ خطای استاندارد میانگین		گروهها
		در عدم حضور غدد جنسی	در حضور غدد جنسی	
NS	-1/189	۲۷/۸۵ $\pm$ ۰/۶۷۰۱	۲۸/۸۵ $\pm$ ۰/۵۰۸۴	گروه کنترل
NS	1/۳۸۵	۲۶/۱۶ $\pm$ ۰/۷۹۲۳	۲۷/۵۷ $\pm$ ۰/۶۴۹۶	گروه روغن کنجد
NS	1/۱۶۷	۲۵/۷۱ $\pm$ ۰/۶۰۶۱	۲۶/۷۱ $\pm$ ۰/۶۰۶۱	گروه حلال سرم فیزیولوژی

NS: تفاوت معنی دار وجود ندارد

بین گروههای آزمایش روغن کنجد در حضور و عدم حضور غدد جنسی در هیچ کدام از روزهای آموزش تفاوت معنی‌دار وجود ندارد (نمودار ۳).<sup>۳</sup>

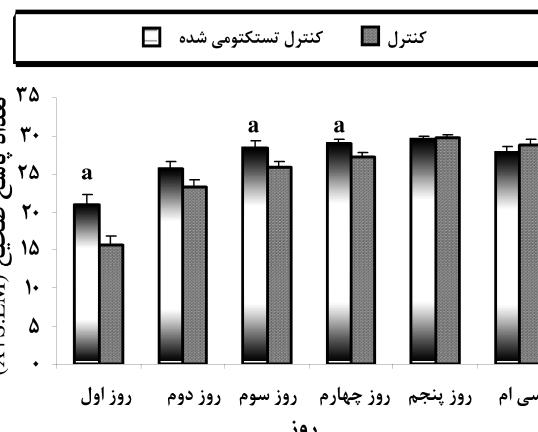


نمودار ۳: مقایسه میانگین تعداد پاسخ صحیح (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد میانگین) در ۵ روز متوالی آموزش گروههای آزمایش روغن کنجد در حضور و عدم حضور غدد جنسی و مقایسه آن با حافظه روز سی ام در مورد حافظه نیز نتایج نشان می‌دهند که در هیچ کدام از گروه‌ها در حضور و عدم حضور غدد جنسی بین میانگین تعداد پاسخ صحیح روز سی ام تست حافظه تفاوت معنی‌دار وجود ندارد (جدول ۲). از نتایج فوق چنین استنباط می‌شود که به طور کلی حضور و عدم حضور غدد جنسی تأثیری بر اثرات بهبودبخش روغن کنجد بر یادگیری فضایی نداشته است، هم‌چنین حضور و عدم حضور غدد جنسی تأثیری در میزان حافظه گروههای مختلف نداشته است.

## بحث

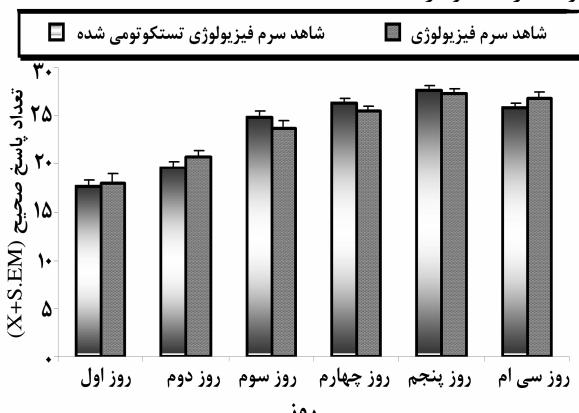
در این مطالعه مقایسه‌ای بین اثر تزریق روغن کنجد در ناحیه CA1 هیپوکامپ بر یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرایی نر بالغ در حضور و عدم حضور غدد جنسی صورت گرفت تا هم اثر حذف غدد جنسی و حذف هورمون‌های تستوسترون و استرادیول داخلی بر یادگیری و حافظه فضایی نسبت به گروههایی که واجد غدد جنسی بودند مشخص شود، هم اینکه اثر تزریق روغن کنجد در گروههایی که واجد غدد جنسی بودند و احتمالاً تداخل عمل بین استروپیدهای داخلی و روغن کنجد تجویز شده مشخص گردد. بدین منظور گروههای کنترل، حلال سرم فیزیولوژی و روغن کنجد در حضور و عدم حضور غدد جنسی با یکدیگر مقایسه شدند.

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از طرح اندازه‌گیری مکرر یک طرفه نشان می‌دهد که به طور کلی در هر دو قسمت آزمایش بین میانگین تعداد پاسخ صحیح (به عنوان معیار یادگیری) در گروههای مختلف تفاوت معنی‌دار وجود دارد ( $p < 0.05$ ). هم‌چنین برای آزمون حافظه از آزمون  $t$  مستقل استفاده گردید. نتایج نشان می‌دهند که: بین گروههای کنترل در حضور و عدم حضور غدد جنسی در روزهای اول، سوم و چهارم تفاوت معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) وجود دارد و در عدم حضور غدد جنسی یادگیری افزایش یافته است (نمودار ۱).



نمودار ۱: مقایسه میانگین تعداد پاسخ صحیح (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد میانگین) در ۵ روز متوالی آموزش گروههای کنترل در حضور و عدم حضور غدد جنسی و مقایسه آن‌ها با حافظه روز سی ام ( $p < 0.05$ ). اختلاف معنی‌دار بین گروه کنترل با گروه کنترل فاقد غدد جنسی (تستکنومی شده)

بین گروههای شاهد سرم فیزیولوژی در حضور و عدم حضور غدد جنسی در هیچ کدام از روزهای آموزش تفاوت معنی‌دار وجود ندارد (نمودار ۲).



نمودار ۲: مقایسه میانگین تعداد پاسخ صحیح (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد میانگین) در ۵ روز متوالی آموزش گروههای شاهد سرم فیزیولوژی در حضور و عدم حضور غدد جنسی و مقایسه آن با حافظه روز سی ام

در عدم حضور غدد جنسی روغن کنجد اثر محسوسی بر یادگیری نداشته است. در این مورد می‌توان چنین پیشنهاد کرد که احتمالاً روغن کنجد در حضور استراديول داخلی اثرات بهبود دهنده‌اش را بر یادگیری اعمال می‌کند و در صورت حذف غدد جنسی به علت حذف استراديول تولید شده توسط بیضه‌ها و یا حذف استراديولی که در مغز از تبدیل تستوسترون توسط آنزیم آروماتاز ایجاد می‌شود، روغن کنجد نتوانسته است تأثیر چشمگیری بر یادگیری داشته باشد. این شواهد پیشنهاد می‌کنند که اثرات مثبت روغن کنجد بر یادگیری احتمالاً از طریق اسیدهای چرب موجود در این روغن می‌باشد، زیرا اسیدهای چرب با شرکت در ساختار غشاء سلول در فعالیت‌های مغزی شرکت می‌نمایند. تحقیقات مختلفی نشان داده‌اند که اسیدهای چرب غیر اشباع لینولئیک و لینولنیک میزان یادگیری موش‌های سفید آرمایشگاهی را تغییر می‌دهد [۱۶]. مطالعه دیگری نشان داده است که اسیدهای چرب غیر اشباع باعث تقویت یادگیری در دستگاه ماز آبی موریس شده است، که پیشنهاد شده است این اثر را از طریق افزایش خارهای دندریتی و سیناپس‌های نرونی ایجاد می‌کنند [۱۵]. هم‌چنین گزارش شده است که فسفولیپیدهای تشکیل شده از اسیدهای چرب غیر اشباع سیالیت غشا را افزایش می‌دهند [۱۸].

یکی از اسیدهای چرب غیر اشباع که به وفور در روغن کنجد یافت می‌شود اسید لینولئیک است، که تحقیقات نشان داده‌اند تجویز این اسید چرب باعث کاهش میزان کلسترون می‌شود. گزارش‌هایی نیز اعلام کرده‌اند که کلسترون باعث کاهش سیالیت غشا می‌شود [۴۰، ۴۲]؛ بنابراین می‌توان چنین استنباط کرد که اسید لینولئیک با کاهش کلسترون باعث افزایش یادگیری می‌شود [۳۶، ۴۲]. استفاده از داروهای کاهش دهنده کلسترون نیز باعث افزایش یادگیری می‌شود [۲۶، ۳۷]. به نظر می‌رسد تغییر در ترکیب غشا به ویژه در میزان کلسترون، از طریق تغییر در سیالیت غشاء ممکن است هورمون‌ها و انتقال دهنده‌های شیمیایی عصبی و پیامبرهای ثانویه را تحت تأثیر قرار دهد [۳۳]؛ علاوه بر اسیدهای چرب غیر اشباع روغن کنجد حاوی ۱٪ لسیتین می‌باشد که این ماده خود باعث کاهش کلسترون می‌گردد [۲۲]. هم‌چنین

نتایج نشان دادند که بین گروه‌های کنترل در حضور و عدم حضور غدد جنسی در روزهای اول، سوم و چهارم تفاوت معنی‌دار وجود دارد و در همه موارد، میانگین مقدار پاسخ صحیح در عدم حضور غدد جنسی بیشتر بوده است. این بدین مفهوم است که حذف غدد جنسی و در حقیقت حذف هورمون‌های استروبیدی (تستوسترون و احتمالاً استراديول) داخلی باعث بهبود یادگیری گردیده است. این نتایج مؤید گزارشی است که نشان می‌دهد که تجویز مزمن تستوسترون آثار تخریبی بر حافظه دارد [۲۶، ۲۸]. هم‌چنین گزارش شده است که برداشتن غدد جنسی عملکرد و ارتباط بین توانایی فضایی دیداری با تستوسترون داخلی وجود ندارد [۲۰، ۳۱] در صورتی که گزارش دیگری اعلام کرده است که برداشتن غدد جنسی عملکرد موش‌های نر را در مازهای مختلف تغییر نداده است [۲۴]، بنابراین چنین استنباط می‌شود که حذف تستوسترون داخلی باعث بهبود یادگیری فضایی می‌شود.

مقایسه بین گروه‌های شاهد سرم فیزیولوژی در حضور و عدم حضور غدد جنسی نشان داد که در هیچ کدام از روزهای آموزش تفاوت معنی‌داری بین این دو گروه وجود ندارد. با توجه به این که مشاهده شد، تعداد پاسخ‌های صحیح در روزهای سوم، چهارم و پنجم آموزش در گروه حلال سرم فیزیولوژی در عدم حضور غدد جنسی بیشتر از گروه حلال سرم فیزیولوژی در حضور غدد جنسی است، هر چند این تفاوت زیاد محسوس نیست، اما مؤید نتایج بدست آمده از مقایسه گروه‌های کنترل در حضور و عدم حضور غدد جنسی می‌باشد، این بدین مفهوم است که حذف غدد جنسی باعث افزایش یادگیری شده است، به طوری که کاهش یادگیری ناشی از عملیات جراحی و تزریق سرم فیزیولوژی در ناحیه CA1 هیپوکامپ را جبران کرده است.

مقایسه گروه‌های روغن کنجد در حضور و عدم حضور غدد جنسی نیز نشان می‌دهد که بین این دو گروه در هیچ کدام از روزهای آموزش تفاوت معنی‌دار وجود ندارد. از این نتایج چنین استنباط می‌شود که در حضور غدد جنسی روغن کنجد باعث بهبود یادگیری شده است، به طوری که اثری که روغن کنجد بر یادگیری اعمال کرده است، معادل اثر حذف غدد جنسی بر یادگیری موش‌های صحرایی نر بالغ بوده است. اما

داد. در مورد حافظه نیز نتایج نشان دادند که حضور و عدم حضور عدد جنسی تأثیر بر حافظه یک ماه بعد نداشته است. با توجه به نتایج مربوط به اثر بهبود بخش روغن کنجد بر یادگیری فضایی می‌توان چنین استنباط کرد که اسیدهای چرب غیر اشباع موجود در روغن کنجد با افزایش سیالیت غشا سلول‌های مغزی به خصوص در ناحیه CA1 هیپوکامپ هم‌چنین لسیتین موجود در روغن کنجد با افزایش عملکرد سیستم کولینرژیک باعث افزایش یادگیری می‌شود. علاوه بر این به نظر می‌رسد این روغن برای اعمال اثرات بهبود بخش خود بر یادگیری با هورمون‌های جنسی تداخل عمل دارد، بنابراین احتمالاً این ماده می‌تواند در پیشگیری و درمان بیماری‌هایی که با اختلالات یادگیری همراه است، همچون بیماری آلزایمر، مؤثر باشد که تحقیقات جامع تر و گستردگتری در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد.

لیستین به عنوان پیش‌ساز استیل کولین به شمار می‌رود و استیل کولین نیز یک ماده افزایش دهنده یادگیری می‌باشد [۲۷، ۳۵] مطالعات اخیر نشان داده‌اند که افزایش استیل کولین در هیپوکامپ موش‌های ماده یادگیری مکانی را افزایش می‌دهد [۳۰]. هم‌چنین گزارش شده است که چون لسیتین منبع تغذیه‌ای اصلی کولین است، مصرف زیاد آن در جیره غذایی باعث کاهش پیشرفت بیماری آلزایمر می‌گردد [۲۱]. تحقیقات دیگری نشان داده‌اند که در تزریق داخل بطن مغزی لسیتین در موش‌هایی که به وسیله اسکوپولامین دچار فراموشی شده بودند، لسیتین بدون تغییر محیطی در بدن می‌تواند عملکرد مغز را تغییر دهد [۳۸]. هم‌چنین تجویز فسفاتیدیل کولین (لسیتین) غلظت استیل کولین مغز را افزایش و حافظه را بهبود می‌بخشد [۱۷]. لذا می‌توان اثر بهبود دهنده روغن کنجد بر یادگیری را به لسیتین موجود در آن نیز نسبت

#### منابع

- [۱] آئینه‌چی‌ی: مفردات پزشکی و گیاهان داروئی ایران. جلد اول، انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۷۳، صفحات: ۲۴۴-۲۴۶
- [۲] پارسا م: اثرات رفتاری هیستوفیزیولوژیک کره پاستوریزه و داروهای کاهش دهنده کلسترونول بر هیپوکامپ موش سفید آزمایشگاهی (RAT). پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده علوم، ۱۳۷۹
- [۳] رشیدی ه، پاپهن ا: بررسی ساختمان دستگاه تناسلی موش‌های ماده متولد شده از مادرانی که در دوران بارداری با جیره‌های حاوی روغن ماهی و روغن ذرت تغذیه شده‌اند. مجله علمی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اهواز، ۱۳۶۸، شماره ۱۴، صفحات: ۱۵-۲۰
- [۴] زرگری ع: گیاهان داروئی. جلد سوم، انتشارات دانشگاه تهران، ۱۳۷۱، صفحات: ۴۷۴-۴۸۰
- [۵] سرورالدین م: طب الکبیر. ۱۳۷۴، صفحات: ۹۲-۹۴
- [۶] سمعی ف: اثر کلسترونول و داروهای کاهش دهنده آن بر یادگیری فضایی در موش سفید آزمایشگاهی (RAT). پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده علوم، ۱۳۸۰
- [۷] صمصام‌شریعت ه، معطر ف: گیاهان و داروهای طبیعی (مفردات پزشکی). جلد دوم، انتشارات روزبهان تهران، ۱۳۷۰، صفحات: ۱۲۸-۱۳۰
- [۸] قاضی‌جهانی ب، مؤید ح، بشیریان م. زیر نظر ملکنیا ن، شهبازی پ: بیوشیمی هارپر. جلد اول، انتشارات سمات، ۱۳۷۶، صفحات: ۲۵۲-۲۷۳
- [۹] معاضدی ا، ابراهیمی س، چینی‌پرداز ر: مقایسه یادگیری فضایی در موش‌های صحرایی نر و ماده با استفاده از دستگاه Y-maze کامپیوتری. مجله علوم دانشگاه شهید چمران اهواز، شماره ۶، تابستان ۷۹
- [۱۰] میرحیدر ح: معارف گیاهی (کاربرد گیاهان و پیشگیری و درمان بیماری‌ها)، جلد اول، دفتر نشر فرهنگ اسلامی، ۱۳۷۲، صفحات: ۳۷۲-۳۷۸
- [۱۱] نصری نصرآبادی م: اثر محیطی و مرکزی منو سیالوگانگلیوژید GMI بر یادگیری و حافظه موش‌های صحرایی جوان و بزرگسال نر. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده علوم، ۱۳۸۰

- [۱۲] نقدی ن، نفیسی ن، مجلسی ن: بررسی تأثیر تزریق داخل هیپوکامپی تستوسترون انانتات بر یادگیری فضایی موش‌های صحرایی. *فیزیولوژی و فارماکولوژی*، ۱۳۷۸، جلد ۳، شماره ۲، صفحات: ۱۷۳-۱۸۰.
- [۱۳] ولی‌زاده م: اثرات روغن کنجد بر روی الکتروکاردیوگرام و تغییرات هیستولوژیک عضله قلبی خرگوش، پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده علوم، ۱۳۷۷.
- [۱۴] هویدا ر: اثر تزریق محبیتی (داخل عضلانی) و داخل ناحیه CA1 هیپوکامپ استرادیول بنزووات بر یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرایی نر بالغ. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده علوم، ۱۳۸۱.

- [15] Bendich A, Brock PE: Rational for the introduction of long chain polyunsaturated fatty acids and for concomitant increase in the level of vitamine in infant formulas. *Int J Vitam Nutr Res.*, 1997; 67(4): 213-231.
- [16] Bourre JM, Francois M, Youyou A, Dumont O, Piciotti M, Pascal G, Durand G: The effects of dietary alpha-linolenic acid on the composition of nerve membranes, enzymatic activity, amplitude of electrophysiology parameters, resistance to poisons and performance of learning task in rats. *J Nutr.*, 1989; 119(12): 1880-92.
- [17] Chung SY, Moriyama T, Uezu E, Uezu K, Hirata R, Yohena N, Masuda Y, Kokubu T, Yamamoto S: Administration of phosphatidylcholine increases brain acetylcholine concentration and improves memory in mice with dementia. *J Nutr.*, 1995; 125(6): 1484-9.
- [18] Colin A, Reggers J, Castronovo V, Ansseau M: Lipids, depression and suicide. *Encephale*, 2003; 29(1): 49-58.
- [19] Daniel S, Bailey S: Industrial and fat products., New York, inter science.swedish universityof agricultural sciences. 1995; 30(6): 499-505.
- [20] Galea LA, Kavaliers M, Ossenkopp KP, Hampson E: Gonadal hormone levels and spatial learning performance in the Morris water maze in male and female meadow voles, *Microtus Pennsylvanicus*. *Horm Behav.*, 1995; 29(1): 106-125.
- [21] Higgins JP, Flicker L. Lecithin for dementia and cognitive impairment. *Cochrane Database Syst Rev.*, 2000; (4): CD001015.
- [22] Hsu HH, Grove WE, Mindulzun R, Knauer CM: Gastric bezoar caused by lecithin: an unusual complication of health faddism. *Am J Gastroenterol.*, 1992; 87(6): 794-6.
- [23] Jonnalagada S, Mustad VA, et al: Effect of Individual Fatty Acids On Chronic Diseases. *Nutrition Today*, 1996; 90-107.
- [24] Joseph R, Hess S, Birecree E: Effects of hormone manipulation And exploration on sex differences in maze learning. *Behave Biol.*, 1978; 24(3): 364-377.
- [25] Kamal\_Eldin A, Pattersson D, Appelquist LA: Sesamin (a compound from sesame oil) increases tocopherol of levels in rats fed adlibitum. *Lipids*, 1995; 30(6): 499-505.
- [26] Kerr JE, Allore RJ, Beek SG, Handa RJ: Distribution and hormonal regulation of androgen receptor (AR) and AR messenger ribonucleic acid in the rat hippocampus. *Endocrinology*, 1995; 136(8): 3213-21.
- [27] Koppen A, Klein J, Erb C, Loffelholz K: Acetylcholin release and choline availability in rat hippocampus: effects of exogenous choline and nicotinamide. *J Pharmacol Exp Ther.*, 1997; 282(3): 1139-45.
- [28] Loodish H, Baltimore Berck A. Molecular Cell Biology. Scientific American Book Inc. 3 th ed. 1995; Chapter 21. pp: 976-984.
- [29] Martin Dale. 3 th ed. London; Royal Pharmaceutical Society. 1996; p:1306.
- [30] Marriott LK, Korol DL: Short-term estrogen treatment in ovariectomized rats augments hippocampal acetylcholine release during place

- learning. *Neurobiol Learn Mem.*, 2003; 80(3): 315-322.
- [31] Mc Ewen BS, Bigeon A, Davis PG, Kery LC, et al: Steroid Hormones: Humoral Signals Which Alter Brain Cell Properties And Function, *Recent Prog Horm Res.*, 1983; 30:41-92.
- [32] Paxinos G, Watson C. The Rat Brain In Stereotaxic Coordinates. 4th ed, Academic Press.
- [33] Mason RP, Shoemaker WJ, Shajenko L, Chambers TE, Herbette LG: Evidence for change in the Alzheimer's disease brain cortical membrane structure mediated by cholesterol. *Neurobiol Aging.*, 1992; 13(3): 413-9.
- [34] Remington: The science and practice of pharmacy .19 th ed. vol(II). 1995; P: 1395
- [35] Reynolds JEF, Martin Dale: The Extra Pharmacopoeia 20th ed. 1989; Pharmaceutical Press. pp: 1258-1583.
- [36] Senturk UK, Oner G: The effect of manganese induced hyper cholesterolmia on learning in rats. *Biol Trace Elem RES.*, 1995; 51(3): 249-257.
- [37] Oner G, Senturk UK,: Reversibility of manganesees-induced learning dffect in rats. *Food chem Toxicol.*, 1995; 33(7): 559-63.
- [38] Suzuki S, Kataoka A, Furushiro M: Effect of intracerebroventricular adminstration of soybean lecithin transphosphatidylated phosphatidylserin on scopolamine-induced amnesia mice. *Jpn J Pharmacol.*, 2000; 84(1):86-88.
- [39] Tamura M, Suzuki H: Effect of docosahexaenoic acid diets on the ultrastructure of liver cells in adult mice. *Int J Vitam Nutr Res.*, 1997; 67(2): 134-5.
- [40] Yehuda S, Brandys Y, Blumenfeld A, Mostofsky DI: Essential fatty acid preparation reduces cholesterol and fatty acids in rat cortex. *Int J Neurosci.*, 1996; 86(3-4): 249-56.
- [41] Yehuda S, Rabinovitz S, Carasso RL, Mostofsky DI: Essential fatty acids preparation (SR-3) improves Alzheimer's patients quality of life. *Int J Neurosci.*, 1996; 87(3-4): 141-9.
- [42] Yehuda S, Rabinovitz S, Mostofsky DI: modulation of learning and neuronal membrane composition in the rat by essential fatty acid preparation: time-course analysis. *Neurochem Res.*, 1998; 23(5): 627-34.

# The Effect of Sesame Oil Injection into CA<sub>1</sub> Area of Hippocampus on Spatial Learning and Memory, and its Interaction with Sexual Steroids in Adult Male Rats

R. Hovayda MSc<sup>1\*</sup>, AA. Moazedi PhD<sup>2</sup>, A. Rasekh PhD<sup>3</sup>

1- MSc of Animal Physiology, Dept. of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University, Ahwaz, Iran

2- Associated Professor of Neurophysiology, Dept. of Biology, Faculty of Sciences, Shahid Chamran University, Ahwaz, Iran

3- Assistant Professor of Statistic, Dept. of Statistic, Faculty of Sciences, Mathematic and Computer, Shahid Chamran University, Ahwaz, Iran.

**Background:** Sesame oil is one of the vegetable oils that has been used in traditional medicine for ages. Evidences indicate that unsaturated fatty acids can modulate learning and memory. In this study the effect of intrahippocampal injection of sesame oil on spatial learning and memory in N-MARI intact and castrated adult male rats was investigated.

**Materials and Methods:** The animals were microcannulated, and divided into 3 intact and 3 castrated groups (n=7 in each group). The intact and castrated control groups (no injection), the castrated and intact saline sham and sesame oil. Test groups received bilaterally, 0.5  $\mu$ l saline or sesame oil into the CA1 region of hippocampus every day for 5 days immediately before the training. Then each rat was trained 30 times every day, for a total of 5 days with Y-maze. After a month, all the groups were tested (one session) for memory test.

**Results:** Statistical analysis of data showed that sesame oil increases learning in both castrated and intact groups, but it did not change the spatial memory in intact animals. Also it did not prevent memory decline in castrated animals.

**Conclusion:** It seems that sesame oil increases learning task. On the other hand, it is probable that sesame oil has an interaction with sexual hormones to exert its enhancement effect on learning task

**Key words:** Spatial Learning and Memory, Sesame oil, CA1 area of Hippocampus, Castrating

\* Corresponding author: Tel: (0311) 2653391

Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences and Health Services, 2004, 3(2): 76-86