

بررسی تاثیر عصاره هیدروالکلی ریزوم گیاه سعدکوفی بر حافظه و یادگیری در رت های نر آلزایمری شده با استرپتوزوتوسین

سیما نصری^{الف*}، محسن ناصری^ب، مرتضی پیری^ج، فائقه محمودی^{نیا^د}

^{الف} دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

^ب دانشیار مرکز تحقیقات کارآزمایی بالینی طب سنتی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

^ج استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اردبیل

^د کارشناس ارشد، گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: بیماری آلزایمر یکی از مهم ترین بیماری های تحلیل برنده عصبی است که به دنبال تولید رادیکال های آزاد و استرس اکسیداتیو بروز می کند. از آنجایی که گیاه سعدکوفی حاوی ترکیبات آنتی اکسیدانی می باشد، در این تحقیق اثرات عصاره هیدروالکلی ریزوم سعد کوفی بر یادگیری و بهبود حافظه در رت های مدل آلزایمری مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها: در این تحقیق تجربی، با تزریق استرپتوزوتوسین به داخل بطن های جانبی مغز رت، مدل مناسبی از آلزایمر ایجاد شد. رت ها به ۷ گروه آزمایشی تقسیم شدند: گروه کنترل، شم، آلزایمری، آلزایمری + درمان با عصاره و سالم + درمان با عصاره. گروه های درمانی عصاره را با دوزهای مختلف به مدت ۲۱ روز دریافت کردند. میزان یادگیری و حافظه فضایی موش ها با روش های آزمون احترازی غیرفعال و آزمون ماز Y شکل ارزیابی شد و با آزمون ANOVA مورد قضاوت آماری قرار گرفت.

یافته ها: در میزان تاخیر اولیه بین گروه ها تفاوت معنی داری وجود نداشت. ولی تفاوت معنی دار در زمان تاخیر در حین عبور بین گروه آلزایمری با بقیه گروه ها مشاهده شد. در آزمون ماز Y شکل، تفاوت معنی داری بین گروه ها دیده نشد.

نتیجه گیری: بنظر می رسد که تزریق داخل بطن های مغزی استرپتوزوتوسین سبب نقص یادگیری و حافظه می شود که درمان رت ها با عصاره سعدکوفی می تواند سبب تقویت توانایی نگهداری اطلاعات در انبار حافظه و به یادآوری آنها شود.

کلید واژه ها: آلزایمر، استرپتوزوتوسین، سعد کوفی، حافظه و یادگیری، شاتل باکس و ماز Y شکل

تاریخ دریافت: خرداد ۹۶

تاریخ پذیرش: بهمن ۹۶

مقدمه:

مشخص می شود، این روش، نشانگر یک مدل آزمایشی مناسب برای بیماری آلزایمر نوع تک گیر (اسپورادیک) است (۳) و (۴) احتمال دارد، کاهش انرژی در دسترس بتواند موجب اختلال در تولید پروتئین های پیش ساز آمیلوئید و در نتیجه تجمع پلاک های بتا-آمیلوئید گردد (۵).

بیماری آلزایمر، شایعترین شکل دمانس مغزی می باشد (۱). بیماری آلزایمر به عنوان یکی از هشت علت مرگ در افراد بالای ۶۵ سال شناخته شده است (۲). تزریق داخل بطن مغزی استرپتوزوتوسین با اختلالی پیش رونده در حافظه و یادگیری، گلوکز مغزی و متابولیسم انرژی

همچنین مشخص شده است که تزریق درون بطنی STZ (streptozotocin) با کاهش فعالیت استیل کولین ترانسفراز و آسیب نورون های آوران کولینرژیک در هیپوکامپ و همچنین کاهش فعالیت مسیرهای کاتکول آمینرژیک موجب پیدایش اختلالاتی در یادگیری و ظرفیت حافظه می گردد (۷،۶).

بنابراین عوامل آنتی اکسیدان و تقویت کننده سیستم کولینرژیک می تواند در تخفیف بیماری آلزایمر موثر باشد (۸). گیاه *Cyperus rotundus L.* از خانواده Cyperaceae، با نام های فارسی اوپار سلام و سعدکوفی، و نام فرانسوی *souchet frond* و نام انگلیسی *nut grass* می باشد (۹).

اسانس ریزوم سعد کوفی حاوی پینن، مقدار کمی سینئول، سسکووی ترپن و یک الکل جدید به نام ایزوسی پرول می باشد. بعلاوه دارای چربی به میزان ۲/۷ درصد است و دارای یک ماده مومی خنثی، گلیسرول، اسید لینولنیک، اسید لینولئیک، اسید اولئیک، اسید میریستیک و اسید استئاریک می باشد (۱۰).

امروزه در چین و هند از ریزوم های این گیاه در فقدان و بند آمدن بی موقع عادت ماهیانه و ناراحتی های رحم، بیماری های کبد و سوء هاضمه استفاده درمانی می گردد. همچنین در هند به عنوان تقویت کننده حافظه، ضد تب، خرد کننده سنگ مثانه، پادزهر سم مار، طپش قلب، حالت قی و اسهال و از مخلوط آن با زنجبیل و عسل در ورم معده، اسهال و ناراحتی های روده و با دوز بالا برای از بین بردن انگل های روده استفاده درمانی به عمل می آید (۱۱).

با توجه به مطالب ذکر شده، هدف از تحقیق حاضر بررسی اثر عصاره هیدروالکلی ریزوم گیاه سعدکوفی بر حافظه و یادگیری در رت های نر آلزایمری شده با استرپتوزوتوسین می باشد.

مواد و روش ها:

- حیوانات:

تحقیق حاضر به روش تجربی انجام گرفت. در این پژوهش از موش های صحرایی نر نژاد ویستار (خریداری شده

از انستیتو پاستور کرج) با محدوده وزنی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده شد. موش ها در شرایط کنترل شده از نظر دما و نور با دسترسی آزاد به آب و غذا در اتاق حیوانات نگهداری شدند.

گروه بندی حیوانات: در مجموع، ۴۹ موش صحرایی سالم به صورت تصادفی به ۷ گروه (n=7) تقسیم شدند:

گروه کنترل: گروه رتهای سالم

گروه شم: گروه جراحی شده، با تزریق محلول نرمال سالین

گروه ضایعه دیده (آلزایمری): جراحی شده، با تزریق ماده

استرپتوزوتوسین

گروه درمان: جراحی شده، با تزریق ماده استرپتوزوتوسین

و دریافت عصاره هیدروالکلی ریزوم سعد کوفی در دو دوز

متفاوت ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم (دو زیرگروه)

گروه سالم: گروه رتهای سالم و دریافت کننده عصاره سعد

کوفی در دو دوز متفاوت (دو گروه)

ابتدا موش توزین و سپس با تزریق داخل صفاقی، مخلوطی

از 100 mg/kg کت—امین و

5 mg/kg زایلازین بیهوش شد. آن گاه موش در دستگاه

استریوتاکس قرارگرفت و توسط قطعه دهانی و

میله های داخل گوشی بر روی میز جراحی ثابت شد (میله

نگهدارنده دندان پیش ۳/۳ میلی متر و میله های نگهدارنده

گوش به شکل متقارن قرار گرفت.

توسط پنبه الکی موهای سر حیوان ضدعفونی شده و به

وسیله کوتتر، یک برش طولی از میان دو چشم تا میان گوش ها

ایجاد گشت. بافت های پیوندی روی مجموعه بوسیله پنبه

آغشته به الکل زدوده شد و نقطه برگما مشخص شده، نشانگر

دستگاه بر روی آن تنظیم گردید. سپس با توجه به مختصات

استخراج شده از اطلس Watson & Paxinos مختصات بطن

های جانبی مغزی موقعیت جلویی- عقبی (AP= -0.8mm)،

جانبی (ML=±1.6mm) و پشتی - شکمی (DV=-4.2mm)

مشخص گردید و با کمک دریل دو سوراخ در مجموعه ایجاد

گردید و کانول مخصوص تزریق به آرامی وارد بطن ها شد. و

سپس با سیمان پوشیده شد (۱۲).

یک هفته پس از جراحی، جهت القای آلزایمر در گروه

ضایعه دیده و گروه درمان، ماده استرپتوزوتوسین با دوز

چون به صورت درصد بیان می شود، کل داده در عدد صد ضرب خواهد شد.

$$\text{درصد تناوب} = \frac{3 \times (\text{تعداد تریادهای تکراری})}{(2-3) \times (\text{تریادهای کل تعداد})} \times 100$$

$$46/51 \text{ درصد} = 100 \times (2-15) / 6 = \text{درصد حافظه فضایی}$$

لازم به ذکر است هر آزمون در هر حیوان فقط یک بار انجام شد (۱۵).

آزمون رفتاری یادگیری اجتنابی غیرفعال:

پس از گذشت ۳ هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین به داخل بطن های مغزی، موش ها تحت مطالعه یادگیری اجتنابی غیرفعال قرار گرفتند. دستگاه یادگیری اجتنابی غیرفعال (Shuttle Box)، شامل دو اتاقک یکی تاریک و دیگری روشن است که توسط یک درب گیوتینی از هم جدا می شوند. این آزمون طی ۴ روز انجام شد. در اولین و دومین روزهای آزمون، هر موش در دستگاه قرار گرفت و برای عادت کردن به دستگاه ۵ دقیقه رها شد.

در روز سوم یک آزمون اکتسابی انجام شد. موش ها به صورت انفرادی در اتاق روشن گذاشته شدند. بعد از یک دوره تطابق (۲ دقیقه) درب گیوتینی باز شد و بعد از ورود موش به اتاق تاریک، درب بسته شد و یک شوک الکتریکی در حد دست و پا زدن به حیوان اعمال شد (۱ میلی آمپر، ۱ ثانیه، یک بار). در این آزمون، تاخیر ابتدایی IL ورود به اتاق تاریک ثبت شده و موش ها با تاخیر اولیه بزرگ تر از ۶۰ ثانیه از مطالعه خارج شدند.

۲۴ ساعت بعد در مرحله یادگیری، هر موش برای ادامه آزمون در اتاق روشن قرار داده شد. موش در حالی که پشت حیوان به سمت درب گیوتین بود داخل اتاق روشن گذاشته و ۱۰ ثانیه بعد، درب گیوتینی بالا کشیده شد.

فاصله زمانی بین قرار گرفتن در اتاق روشن و ورود به اتاق تاریک، اندازه گیری شد و به عنوان زمان تاخیر در حین عبور (STL) (حداکثر ۶۰ ثانیه) بیان گردید (۱۵).

3mg/kg در سالین حل شد و با سرنگ همیلتون و پمپ میکرواینجکشن به حجم ۱۰ میکرولیتر در هر طرف بطن تزریق شد. در انتهای تزریق، سرنگ ۵ دقیقه دیگر برای انتشار استرپتوزوتوسین به داخل بطن های مغزی در محل مورد نظر نگهداری شد (۱۳).

- عصاره گیری

عصاره گیری به روش خیساندن (ماسراسیون) انجام شد، ریزوم ها در الکل اتیلیک ۷۰ درصد خیسانده شد (۱۴) و سپس با بن ماری تغلیظ و عصاره غلیظ شده حاصل با دوزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم آماده گردید. سپس با کمک سرنگ انسولینی به صورت داخل صفاقی به موش ها تزریق عصاره تا ۲۱ روز ادامه داشت (۱۰). بعد از اتمام دوره تزریق داخل صفاقی آزمون های رفتاری بر روی موش ها انجام شد.

- آزمون های رفتاری

- آزمون رفتاری حافظه فضایی با ماز Y شکل:

دستگاه ماز Y شکل یک جعبه سه بازویی سیاه رنگ ساخته شده از پلکسی گلاس می باشد. سه بازو مشابه (A, B, C) و هر بازوی ماز به ترتیب دارای طول، عرض و ارتفاع ۴۰، ۳۰ و ۱۵ سانتی متری می باشد. بازوها با زوایای مساوی (۱۲۰ درجه) نسبت به هم قرار گرفته اند. در مرکز ماز، بازوها به یک ناحیه مثلث متساوی الاضلاع شکلی راه می یابند.

برای انجام آزمون، هر موش در انتهای یکی از بازوهای ماز (مثلاً A) قرار می گرفت و اجازه داشت به صورت آزادانه در مدت ۸ دقیقه در بازوهای ماز حرکت کند. توالی ورود به هر بازوی ماز طی این مدت به صورت دستی ثبت می شد. اگر فرض کنیم موش ۱۷ بازوی ماز را مشابه تناوب (ACB, ACA, ACB, ACA, BAC, CAC, BAC, CAC, BAC, CAC) حرکت کرده باشد، این حیوان ۵ تا ۳ بازویی (تریاد) به اضافه دو بازو را رفته که از ۵ تریاد ۲ تا غیر تکراری می باشد (تریادهای واضح تر). درصد رفتار تناوبی که میزان حافظه فضایی را در حیوان مشخص می کند، عبارت است از تعداد بازوهای تریادهای غیر تکراری (۶=۳×۲) تقسیم بر کل بازوهای تریادها (۱۵=۳×۵) منهای دو (۱۳=۱۵-۲) و

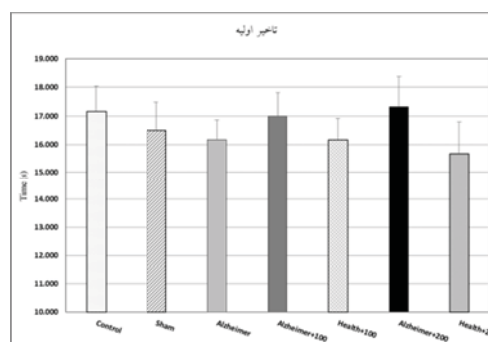
آنالیز آماری

برای بررسی نتایج مربوط به آزمون های رفتاری از نرم افزار SPSS استفاده گردید و تمامی نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار و آزمون Anova و تست تکمیلی Tukey با شرط معنی داری ($P < 0.05$) بیان شده اند (۱۵).

یافته ها:

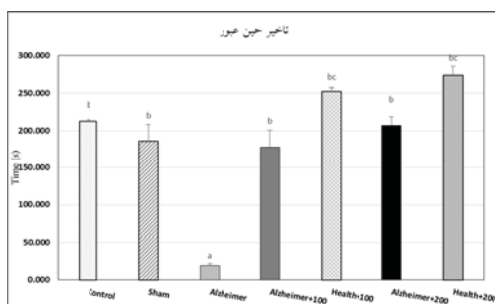
اثر تزریق عصاره هیدروالکلی ریزوم سعد کوفی بر یادگیری اجتنابی غیرفعال:

اثر تزریق عصاره هیدروالکلی ریزوم سعد کوفی بر میزان تاخیر اولیه: بین میانگین تاخیر اولیه در گروه های کنترل، شام، آلزایمر، آلزایمر + دوز ۱۰۰ عصاره، آلزایمر + دوز ۲۰۰ عصاره، سالم و دوز ۱۰۰ عصاره و سالم و دوز ۲۰۰ عصاره اختلاف معنی داری وجود ندارد (نمودار ۱).



نمودار ۱- زمان تاخیر اولیه در گروه ها در آزمون یادگیری اجتنابی غیرفعال ($n=7$) بین گروه ها تفاوت معنی داری وجود ندارد ($P > 0.5$).

مقایسه داده های حاصل از تزریق عصاره هیدروالکلی ریزوم سعد کوفی بر میزان تاخیر حین عبور نشان دهنده کاهش معنی داری در میزان تاخیر حین عبور در گروه آلزایمری نسبت به گروه کنترل است، اما درمان با دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم عصاره از کاهش تاخیر حین عبور در گروه آلزایمری به میزان معنی داری می کاهد (نمودار ۲).



نمودار ۲- زمان تاخیر حین عبور در گروه ها

در آزمون یادگیری اجتنابی غیرفعال ($n=7$) بین گروه ها تفاوت معنی داری وجود دارد

a : اختلاف با گروه کنترل ($P < 0.001$)

b : اختلاف با گروه آلزایمر ($P < 0.001$)

c : اختلاف با گروه کنترل ($P < 0.05$)

۲-۳ اثر تزریق عصاره هیدروالکلی ریزوم سعد کوفی بر حافظه فضایی در آزمون ماز Y شکل::

اثر تزریق عصاره هیدروالکلی ریزوم سعد کوفی بر حافظه فضایی نشان می دهد که میانگین درصد رفتار تناوبی در گروه سالم + دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ عصاره نسبت به گروه کنترل تفاوتی نداشته است اما در گروه آلزایمر نسبت به گروه کنترل کاهش حافظه فضایی مشاهده می شود و در گروه های آلزایمر + دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ عصاره نسبت به گروه آلزایمری افزایش معنی داری نداشته است (نمودار ۳).

فلاونوئیدها و دیگر ترکیبات پلی فنولی باعث از بین بردن رادیکال های آزاد می شوند و مهارکننده پراکسیداسیون لیپید هستند (۱۷، ۱۸).

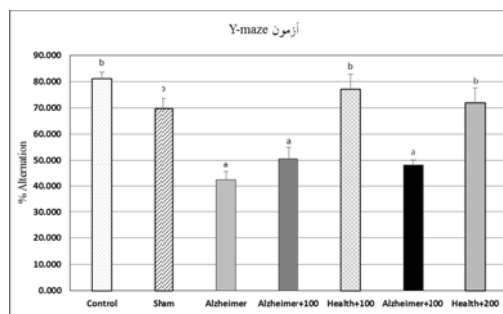
از آن جا که میزان مصرف اکسیژن در هیپوکامپ و استریاتوم مغز بیشتر است، تاثیر رادیکال های آزاد نیز در این مناطق بیشتر است، این مناطق نسبت به مناطق دیگر حساس تر هستند (۱۸) و احتمالاً اثر حفاظتی پلی فنول های موجود در سعدکوفی وابسته به توانایی هیدروژن دهی آن ها است که می توانند یک اتم هیدروژن را از گروه آروماتیک به رادیکال های آزاد داده و آن را خنثی کنند و باعث پاکسازی رادیکال های آزاد می شوند و به طور کلی عصاره ریزوم سعدکوفی سرشار از آنتی اکسیدان های طبیعی از جمله فلاونوئیدها و ویتامین ها است (۱۶) که می تواند اهمیت زیادی به عنوان عامل درمانی برای کاهش استرس اکسیداتیو در سیستم اعصاب مرکزی، همچنین در فرآیند پیری و بیماری های وابسته به رادیکال های آزاد، از جمله تحلیل عصبی داشته باشد (۱۷، ۱۸).

استیل کولین یکی از مهم ترین نوروترانسمیترهای آزاد شده از هیپوکامپ است که توسط جسم سلولی کولینرژیک در ناحیه سپتال میانی (medial septal) آزاد می شود (۱۹).

تحقیقات نشان داده اند که فعال شدن گیرنده ی موسکاربینی استیل کولین باعث فعال شدن نورون های هرمی و افزایش رهایش گلوتامات در هیپوکامپ می شود. فعال شدن این گیرنده ها تغییر شکل سیناپسی و تقویت دراز مدت سیناپسی را در نواحی مختلف مغز تسهیل می کند (۲۰).

یک آنتی آنزیم استیل کولین استراز توسط کروماتوگرافی و کریستالیزیشن از گیاه سعدکوفی استخراج شده است و بررسی ها ثابت کرده که عصاره متانولیک این گیاه به طرز قوی از فعالیت آنزیم استیل کولین استراز که تجزیه کننده استیل کولین است، جلوگیری می کند (۲۱).

پس با توجه به مهار آنزیم استیل کولین استراز، سطح استیل کولین در مغز افزایش یافته که می تواند موجب تقویت حافظه شود. از سوی دیگر سیستم دوپامینرژیک در مکانیسم های مغزی تقویت و استحکام دخالت دارد (۲۲).



نمودار ۳- رفتار تناوبی در آزمون ماز Y

تحت تاثیر عصاره هیدروالکلی ریزوم سعد کوفی در موش های مدل آلزایمری (n= ۷). بین گروه های الزایمری و آلزایمری دریافت کننده عصاره تفاوت معنی داری وجود ندارد (P>0.5).

بحث:

نتایج پژوهش حاضر نشان می دهد که تفاوت معنی داری در میزان تاخیر اولیه در بین گروه ها وجود نداشت. این مساله نشان دهنده آن است که تزریق داخل صفاقی عصاره سعد کوفی در موش های صحرائی نر بالغ قادر نیست در این حیوانات قدرت کسب اطلاعات جدید را به وجود آورد. همچنین تاخیر در حین عبور که شاخصی از توانایی حیوان برای نگهداری اطلاعات در انبارهای حافظه و به یادآوری آن ها می باشد، مشخص کرد که تزریق داخل صفاقی عصاره در دوزهای بالا قادر به افزایش زمان تاخیر در حین عبور و در نتیجه افزایش قدرت یادآوری اطلاعات در موش های صحرائی تحت تیمار است .

حافظه فضایی موش نیز از طریق آزمون ماز Y شکل اندازه گیری شد و اثر تقویتی دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم بر حافظه فضایی نشان داده نشد.

آنالیز شیمیایی ساده از ریزوم های گیاه سعدکوفی نشان دهنده حضور فلاونوئیدها، ویتامین ها و کربوهیدرات ها می باشد. فلاونوئیدها به عنوان ترکیباتی که دارای فعالیت در سیستم عصبی مرکزی هستند، شناخته شده اند (۱۶).

آزمایشات بر روی مدل های حیوانی نشان داده که افزایش دوپامین در یادگیری، نقش دارد که به موجب آن باعث افزایش LTP می شود (۲۳).

آگونیست دوپامین باعث تحریک سنتز فاکتور نوروتروفین در آستروسیت ها می شود (۲۴). کاهش نوروتروفین ها یکی از علل آتروفی سلول های عصبی می باشد (۲۵) عصاره سعدکوفی به صورت کاملاً محسوسی میزان دوپامین را بالا می برد (۲۶) که می توان نتیجه گرفت این سیستم نیز یکی از سیستم های احتمالی در تقویت حافظه می باشد.

نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان می دهد که تزریق داخل بطن های مغزی استرپتوزوتوسین در مدل احترازی غیرفعال در رت ها، سبب کاهش معنی داری در حافظه و یادگیری شده است و همچنین یک نقص حافظه فضایی در مدل ماز Y شکل ایجاد کرده و درمان رت ها با عصاره سعدکوفی می تواند یادگیری را بهبود بخشد.

وجود تفاوت معنی دار در زمان تاخیر در حین عبور (STL) بین گروه های کنترل، شم، آلزایمری و گروه های درمان،

نشان دهنده تاثیر مثبت عصاره هیدروالکلی ریزوم سعد کوفی بر یادآوری مطالب در بیماری آلزایمر می باشد.

تزریق داخل صفاقی ریزوم سعدکوفی در دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ باعث افزایش توانایی نگهداری اطلاعات در انبار حافظه و یادآوری آن ها در حیوانات در آزمون اجتنابی غیرفعال می گردد. احتمالاً بخشی از اثرات سودمند این ماده از طریق مواد آنتی اکسیدانی (فلاونوئیدها) و آنتی استیل کولین استرازی (ترین ها) موجود در عصاره اعمال می شود.

نتیجه گیری:

درمان رت های مدل الزایمری با عصاره سعدکوفی می تواند یادگیری را بهبود بخشد، ولی دوزهای استفاده شده در این تحقیق تاثیری بر حافظه فضایی نداشته است. بررسی های بیشتر در بیماران الزایمری و همچنین مطالعات در سطح مولکولی برای تعیین مکانیزمهای احتمالی تاثیر سعد کوفی بر بهبود حافظه و یادگیری پیشنهاد می شود.

References:

1. Brai E, Stuart S, Badin AS, Greenfield SA. A Novel Ex Vivo Model to Investigate the Underlying Mechanisms in Alzheimer's Disease. *Front Cell Neurosci* 2017 Sep;11:291.
2. Mayeux, R., Epidemiology of neurodegeneration. *Annu Rev Neurosci* 2003; 26: 81-104.
3. Andallu, B., Radhika, B. Hypoglycemic, diuretic and hypocholesterolemic effect of winter cherry (*Withaniasomnifera*, Dunal) root. *Indian J ExpBiol* 2000; 38: 607-609
4. Labak, M., Foniok, T. Kirk, D. Rushforth, D. Tomanek, B. Jasinski, A. et al. Metabolic changes in rat brain following intracerebroventricular injections of streptozotocin: a model of sporadic Alzheimer's disease. *ActaNeurochir* 2010; 106: 177-181.
5. Hoyer, S., Lee, SK. Loffler, T. Schliebs, R. Inhibition of the neuronal insulin receptor. An in vivo model for sporadic Alzheimer disease *Ann NY AcadSci* 2000; (920): 256-258
6. Hoyer, S., Lannert, H. Long-term effects of corticosterone on behavior, oxidative and energy metabolism of parietotemporal cerebral cortex and hippocampus of rat: comparison to intracerebroventricular streptozotocin. *J Neural Transm* 2008; 115(9): 1241-1249.
7. Ishrat T, Khan MB, Hoda MN, Yousuf S, Ahmad M, Ansari MA, et al. Coenzyme Q₁₀ modulates cognitive impairment against intracerebroventricular injection of streptozotocin in rats. *Behav Brain Res* ; ; (): .
8. Barkats, M., Millemans, S. Abrioux, P. Geoffroy, MC. Mallet, J. Over expression of glutathione peroxidase increases the resistance of neuronal cell to Aβ-mediated neurotoxicity. *J Neuro-chem* 2000; 75(4): 1438-1446.
9. Mozaffarian V. A dictionary of Iranian plants name: Farhang Moaser; Tehran; 1998: 147.
10. Rabiei, Z., Hojjati, M. Rafieian-Kopaeia, M. Alibabaei, Z. Effect of *Cyperus rotundus* tubers ethanolic extract on learning and memory in animal model of Alzheimer. *Biomedicine & Aging Pathology* 2013; 3: 185-191.
11. Soltani A. Encyclopedia of traditional medicine herbal: 2nd ed: Arjmand; Tehran; 2007.
12. Zamani Z, Reisi P, Alaei H, Pilehvarian A.A, Zamani Z. Effect of Royal Jelly (RJ) on Learning and Memory in Rats after Intracerebroventricular Injection of Streptozotocin (icv-STZ). *Journal of Isfahan Medical School* 2011;28(123): 1825-34.
13. Khalili M, Vaez Mahdavi M. The effect of oral feeding of *Withania somnifera* L. alcoholic extract on intracerebroventricular streptozotocin-induced cognitive deficits in male rat. *Daneshvar Medicine* 2012; 99: 1-11.
14. Afraze Z, Bolandi M, Khorshidi M, Mohammadi Nafchi A. Evaluation of antioxidant activity of aqueous and alcoholic extracts (methanol, ethanol) saffron petals. *Saffron Agronomy & Technology* 2014; 2(3): 231-36.
15. Germezgoli S, Nasri S, naseri M. Evaluating the Root Extract of *Cyperus rotundus* L. on Learning and Memory in Male Rats. *Sjimu* 2015; 22 (6) :34-43
16. Shirvakumar, I., Hallikeri, CS. Hatapacki, B. Chandiganur, JS. Kuber, Sankh. Shivakuma, B. Anticonvulsant effect of *Cyperus rotundus* Linn rhizomes in rats. *Journal of Natrhal Remedies* 2009; 9/2: 192-196.
17. Nagulendran, KR., Velava n, S. Mahesh, R. In Vitro Antioxidant Activity and Total Polyphenolic Content of *Cyperus rotundus* Rhizomes. *E-Journal of Chemistry* 2007; 4: 440-449.
18. Kilani-Jaziri, S., Mhalla, D. Chibane, F. Ghedira, Z. Limem, I. Ghedira, K. Pharmacological, antioxidant, genotoxic studies and modulation of rat splenocyte functions by *Cyperus rotundus*. Extracts *BMC* 2013; 13: 28 doi: 10.1186/1472-6882-13-28,1.

19. Emami, M., Hosseini, A. Saedi, A. Golbidi, D. Reisi, P. Alaei, H. Effect of red grape juice on learning and passive avoidance memory in rats. *Journal of isfand Medical school* 2010; 28(104): 1-8.
20. Favoni Mendes, LA., Menescal-de-Oliveira, L. Role of cholinergic, opioidergic and GABAergic neurotransmission of the dorsal hippocampus in the modulation of nociception in guinea pigs. *Life Sci* 2008; 83: 644-650.
21. Hasselmo, ME., Neuromodulation: Acetylcholine and memory consolidation. *Trends in Cognitive Sciences* 1999; 3(9): 351-359.
22. Rashmi, Sharma., Rajendra, Gupta. Cyperus rotundus extract inhibits acetylcholinesterase activity from animal and plants as well as inhibits germination and seeding growth in wheat and tomato. *Life Science* 2007; 80: 2389-2392.
23. Carlson, R., *Physiology of behavior*. Third edition, Neil; 1986: 504-632.
24. Lisman, JE., Grace, AA. The hippocampal-VTA loop: controlling the entry of information into long-term memory. *Neuron* 2005; 46: 703-713.
25. Ohta, K., Kuno, S. Mizuta, I. et al. Effects of dopamine agonists bromocriptine, Pergolide, cabergoline, and SKF-38393 on GDNF, NGF, and BDNF synthesis in cultured mouse astrocytes. *Life Sci* 2003; 73: 617-626.
26. Smith, MA., *International review of Neurobiology*. Acad Press, 1998; 42: 1-43
27. Zhou Zhong, Liu., LIU Young, hui. Study on Antidepressant effect and mechanism by Cyperus rotundus extracts. *Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formuloe* 2012; 7.

