

اثر بربرین هیدروکلراید بر اختلالات شناختی در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

غلامحسن واعظی^۱، حمید کلایان‌مقدم^۲، مهناز مصری‌پور علویجه^۳، معصومه سلیمی^۳

^۱ استادیار گروه علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران

^۲ عضو هیأت علمی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران

^۳ دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران

نشانی نویسنده مسؤل: دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دانشکده علوم پایه، مهناز مصری‌پور علویجه

E-mail: Shahrood_alavi@yahoo.com

وصول: ۹۱/۲/۱۱، اصلاح: ۹۱/۴/۱۴، پذیرش: ۹۱/۶/۲

چکیده

زمینه و هدف: بیماری دیابت منجر به بروز اختلالات یادگیری و حافظه‌ای گردیده و بربرین هیدروکلراید، آکالوئیدی با آثار متعدد ضد دیابتی و آنتی اکسیدان می‌باشد. لذا این مطالعه با هدف تأثیر بربرین هیدروکلراید بر اختلالات یادگیری و حافظه فضایی در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین طراحی گردید

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به‌طور تصادفی انتخاب و به پنج گروه مساوی: کنترل، غیردیابتی تیمار شده با بربرین هیدروکلراید (۱۰۰ mg/kg)، دیابتی و دیابتی تیمار شده با بربرین هیدروکلراید (۵۰، ۱۰۰ mg/kg) تقسیم شدند. دیابت با تزریق درون‌صفاقی استرپتوزوتوسین با دوز (۵۵ mg/kg) به‌صورت درون صفاقی القاء گردید. یک هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین، تیمار با بربرین هیدروکلراید با دوز ۵۰، ۱۰۰ mg/kg/day به مدت شش هفته به‌صورت خوراکی انجام گردید. قند خون در هفته‌های ۱، ۳، ۵، ۷ با خون‌گیری از سیاهرگ دمی سنجش و در پایان گروه‌ها با آزمون‌های رفتاری شناخت فضایی (spatial recognition) و شناخت اشیاء (objective recognition) مورد ارزیابی قرار گرفتند.

یافته‌ها: گروه دیابتی تیمار شده با بربرین هیدروکلراید (۵۰، ۱۰۰ mg/kg) بهبودی قابل توجهی را به‌صورت وابسته به دوز با گروه کنترل دیابتی در آزمون‌های شناخت فضایی و آزمون شناخت شیء نشان دادند.

نتیجه‌گیری: تجویز بربرین هیدروکلراید به‌مدت شش هفته منجر به بهبودی اختلالات شناختی از جمله حافظه و یادگیری در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین می‌شود.

واژه‌های کلیدی: دیابت ملیتوس؛ بربرین، اختلالات شناختی، حافظه، یادگیری.

مقدمه

متابولیسم پروتئین، چربی و کربوهیدرات‌ها می‌باشد که بر

اثر کمبود یا کاهش نسبی انسولین و یا کاهش حساسیت

بیماری دیابت، مجموعه‌ای از اختلالات پیچیده در

منظور برطرف کردن آسیب‌های اکسیداتیو، محققین از داروهای متعدد با خاصیت آنتی‌اکسیدان از جمله ویتامین A، ویتامین C، بتا کاروتن استفاده نموده‌اند (۱۵).

دیابت موجب کاهش تراکم نورون‌هایی در ناحیه شکنج دنداندار می‌شود که در فرایندهای یادگیری و حافظه نقش دارند (۱۶). از آنزیم نیتریک‌اکساید سنتتاز نقش مهمی در پلاستیسیته سیناپسی و روندهای یادگیری و حافظه در ناحیه هیپوکمپ ایفا نموده که بیماری دیابت بیان این آنزیم را در ناحیه هیپوکمپ کاهش می‌دهد. به عبارت دیگر با این مکانیسم می‌توان اختلالات یادگیری و حافظه را در مدل‌های حیوانی تا حدودی توجیه نمود (۱۶، ۱۷).

کاهش بیان پروتئین‌های گروه (NCAM) Neural Cell Adhesion Molecule در نواحی مختلف مغز حیوانات دیابتی به ویژه هیپوکمپ، قشر مخ و مخچه نیز می‌تواند برخی نقایص شناختی مرتبط با دیابت قندی را به خوبی توضیح دهد (۱۷).

بربرین هیدروکلراید آلکالوئیدی گیاهی با تاریخ درمانی بسیار طولانی است که در طب سنتی چین و هند (Ayurveda) کاربرد داشته‌است. این آلکالوئید در ریشه، ریزوم و ساقه و پوست بسیاری از گیاهان خانواده Coptis chinensis و Berberis vulgaris وجود دارد (۱۸). این ترکیب دارای آثار ضد میکروبی و ضد پروتوزوایی و ضد-اسهالی و ضد سرطانی و کاهنده چربی و فشار خون و ضد التهابی و ضد دیابتی است. بربرین آثار متعددی را بر متابولیسم کربوهیدرات و چربی‌ها اعمال می‌نماید، از جمله بیان mRNA گیرنده انسولین را از طریق پروتئین کیناز C به‌عنوان یک پروموتور در کشت‌های سلولی کبد انسان و ماهیچه اسکلتی افزایش داده (۱۹) و قادر است، از تخریب سلول‌های پانکراس به ویژه سلول‌های β در مقابل استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی دیابتی جلوگیری نموده (۲۰) و اثر مهار بر لیپواکسیژناز (۲۱) و گزانتین‌اکسیداز (۲۲) اعمال نماید. این آنزیم‌ها، دو منبع

بافت‌ها نسبت به انسولین ایجاد می‌شود (۱). دیابت عوارض متابولیکی حادی نظیر کتواسیدوز، اغمای هیپراسمولار و یا عوارض مزمن نامطلوب نظیر: نوروپاتی (۲)، نوروپاتی (۳)، رتینوپاتی (۴)، ضایعات پوستی و نیز اختلالات متعددی در سیستم قلب و گردش خون ایجاد می‌نماید (۵).

تحقیقات قبلی نشان داده که افزایش قند خون از چند مسیر جداگانه استرس اکسیداتیو را القا می‌نماید، از جمله می‌توان به عدم تعادل اکسیداسیون و احیاء، افزایش فعالیت آلدوز ردوکتاز (۶)، افزایش محصولات نهایی گلیکوزیلاسیون (۳)، تغییر در فعالیت پروتئین کیناز C، اختلال در تعادل پروستانوئیدها (۷، ۸) و افزایش تولید سوپراکسیدهای میتوکندریایی را نام برد (۹).

عوامل ایجاد کننده استرس اکسیداتیو باعث عدم توازن محصولات رادیکالی آزاد و مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدان گردیده و آسیب‌های بافتی بالقوه‌ای را در بافت‌های مختلف ایجاد می‌نمایند (۱۰).

نوروپاتی یکی از مهم‌ترین مشکلات بالینی و یکی از علل مرگ و میر بیماران دیابت قندی است. براساس یافته‌های تحقیقاتی جدید، ظهور دیابت قندی با تغییرات ساختمانی و عملکردی در فیبرهای عصبی همراه بوده (۱۱) و دیابت یکی از عوامل شناخته شده در بروز آلزایمر می‌باشد (۱۲). تاکنون تحقیقات زیادی در ارتباط با دیابت و نوروپاتی محیطی به انجام رسیده است، اما در مورد آثار دیابت بر سیستم اعصاب مرکزی، به ویژه تغییرات رفتاری ناشی از آن، شامل اختلالات یادگیری و حافظه اطلاعات محدودی در دسترس می‌باشد (۱۳).

دیابت به‌ویژه دیابت نوع ۱، موجب بروز اختلال در روندهای مرتبط با یادگیری و حافظه و سایر اختلالات شناختی در حیوانات مبتلا می‌شود که مکانیسم‌های آن به خوبی مشخص نشده است، اما شواهدی مبنی بر دو فرضیه میکروواسکولار و استرس اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن مطرح است (۱۴). از این رو به-

سیترات (0/05M) با pH=4/5 انجام شد. سنجش قند خون، یک هفته بعد از تزریق استرپتوزوتوسین و با استفاده از خون سیاهرگ دمی، به کمک دستگاه کلوگوکارد 01 USA انجام و موش‌های صحرایی دارای قند خون بالاتر 300 mg/dl دیابتی در نظر گرفته شدند. گروه‌های درمانی به مدت 6 هفته، داروی بربرین-هیدروکلراید را با دوز 100 mg/kg و 50 به صورت گاوژ دریافت و گروه غیردیابتی تیمار با دارو نیز بربرین-هیدروکلراید را به صورت گاوژ با دوز 100 mg/kg دریافت نمودند (23,24).

از آنجا که آثار اختلالات یادگیری و حافظه‌ای ناشی از دیابت بعد از گذشت شش هفته از دیابتی شدن مشهود می‌شود، لذا سنجش رفتار شناخت فضایی، در پایان هفته ششم پس از تزریق استرپتوزوتوسین، انجام گردید. طول و عرض و ارتفاع هر بازوی Y-maze، به ترتیب 50 در 15 در 30 سانتی‌متر بود. ابتدا بازوی شماره 3 با کمک درب گیوتینی بسته و سپس موش‌های صحرایی را به نوبت از بازوی شماره 1 به Y maze وارد شدند و اجازه داده شد تا برای مدت 5 دقیقه بین دو بازو رفت‌وآمد کنند. سپس جانور به قفس برگردانده شد، بعد از گذشت 30 دقیقه مجدد از بازوی شماره 1 جانور را وارد کرده، اما این بار درب گیوتینی بازوی شماره 3 را باز گذاشته و اجازه داده می‌شود تا جانور برای مدت 5 دقیقه در بین سه بازو رفت و آمد کند. در تمام این مدت حرکت جانور، فیلم‌برداری می‌شود. پس از فیلم‌برداری تعداد دفعات حرکت در بازوی جدید و تعداد دفعات ایستادن روی دو پای عقب در بازوی جدید و مدت زمان تأخیر در شروع حرکت و تصمیم‌گیری برای انتخاب یک بازو از بازوهای شناخته شده و جدید، ارزیابی می‌شود (25). سپس در آزمون شناسایی اشیاء هر یک از موش-های صحرایی به مدت 15 دقیقه در جعبه سفید رنگی چوبی به ابعاد 40 در 40 و ارتفاع 16 سانتی‌متر قرار داده و بعد از گذشت یک هفته، دو شیء یکسان را در جعبه

مهم ایجادکننده تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) بوده و این توانایی بیانگر خاصیت آنتی‌اکسیدانی بربرین-هیدروکلراید می‌باشد. با توجه به شواهد متعدد که نشان دهنده نقش مؤثر بربرین‌هیدروکلراید در کاهش عوارض هیپرگلیسمی و تنظیم اختلالات اکسیداتیو ناشی از القای دیابت می‌باشد به نظر می‌رسد، بربرین‌هیدروکلراید در دوز فارماکولوژیک به طور درازمدت می‌تواند تأثیر نامطلوب دیابت را در عملکرد شناختی از جمله شناخت فضایی و شناخت اشیاء در دستگاه عصبی مرکزی بهبود بخشد که این فرضیه در این مطالعه مورد آزمون قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

جهت انجام این تحقیق رفتاری از 40 سر موش صحرایی نر، نژاد ویستار با وزن متوسط 24.0 ± 4.0 گرم از مؤسسه پاستور کرج استفاده شد. نمونه‌ها به منظور انطباق با محیط، از یک هفته قبل از شروع آزمایش، در محیط آزمایشگاه با دمای 22 ± 2 درجه سلسیوس قرار گرفته و به طور آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. قابل ذکر است که نکات اخلاقی در رابطه با نگهداری و کار با حیوانات آزمایشگاهی در تمام مدت کار رعایت گردیده است.

موش‌ها به طور تصادفی به پنج گروه 8 تایی تقسیم شدند: گروه کنترل دیابتی، گروه دیابتی تیمار شده با بربرین‌هیدروکلراید (50 mg/kg)، گروه دیابتی تیمار شده با بربرین‌هیدروکلراید (100 mg/kg)، گروه کنترل سالم و گروه غیردیابتی تیمار شده با بربرین‌هیدروکلراید (100 mg/kg).

داروهای به کار رفته در این آزمایش نیز شامل: بربرین هیدروکلراید (14050) و استرپتوزوتوسین (با شماره SO130) بودند، که همگی از شرکت سیگما خریداری شدند.

القای دیابت با تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین (ip. 55 mg/kg) حل شده در بافر

قرار داده و هریک از موش‌های صحرائی برای مدت ۱۰ دقیقه در جعبه مستقر شدند و پس از گذشت ۳۰ دقیقه یکی از شیء‌ها با شیء دیگری که از نظر رنگ متفاوت بود جابجا شد و مجدد هریک از موش‌های صحرائی برای مدت ۵ دقیقه در جعبه قرار گرفتند و تمامی این مدت با دوربین فیلم‌برداری شد (۲۶).

هنگام بررسی فیلم‌ها، چنانچه موش صحرائی برای اولین بررسی به سمت شیء جدید حرکت و آنرا بررسی می‌کرد به‌عنوان حرکت مطلوب و در صورت بی-تفاوت بودن و یا بررسی شیء قدیمی به‌عنوان حرکت نامطلوب در نظر گرفته شد. سپس آزمون آماری برای تک‌تک گروه‌ها با کمک برنامه prism و آزمون one way ANOVA انجام گردید. سنجش معنی‌دار بودن یا نبودن تفاوت‌ها با روش غیرپارامتریک من‌ویتنی انجام گردید. گروه‌ها یک بار نسبت به گروه کنترل دیابتی و بار دیگر نسبت به گروه کنترل سنجیده شدند. در تمامی بررسی‌ها $P < 0/05$ به‌عنوان حداقل سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

اندازه‌گیری وزن گروه‌ها هر دو هفته یک بار نشان می‌دهد که از هفته سوم به بعد کاهش معنی‌داری

(در سطح $P < 0/001$) گروه کنترل دیابتی نسبت به کنترل نشان داده و از هفته پنجم به بعد گروه دیابتی تیمار با دوز ۱۰۰ mg/kg و ۵۰ دارو به‌طور وابسته به دوز، افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل دیابتی نشان می‌دهد و نیز از هفته پنجم به بعد گروه کنترل تیمار با دارو دوز mg/kg ۱۰۰ کاهش معنی‌داری (در سطح $P < 0/001$) نسبت به گروه کنترل نشان داده‌است (جدول ۱).

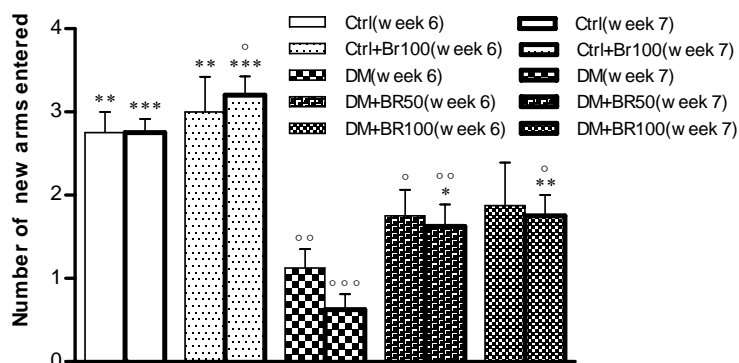
در ارزیابی میزان قند خون گروه‌ها، هر دو هفته یک بار نشان می‌دهد که از هفته پنجم به بعد، گروه دیابتی تیمار با دوز mg/kg ۱۰۰ و ۵۰ دارو به‌طور وابسته به دوز، کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل دیابتی نشان می‌دهد (جدول ۱).

نمودار ۱: مقایسه تعداد حرکت به سمت بازوی جدید Ymaze نشان می‌دهد در هفته هفتم هر دو گروه دیابتی تیمار شده با دوز mg/kg ۱۰۰ و ۵۰ دارو به‌طور وابسته به دوز افزایش معنی‌داری (به ترتیب در سطح $P < 0/01$ و $P < 0/05$) نسبت به گروه کنترل دیابتی داشته و نیز گروه کنترل تیمار شده با دوز mg/kg ۱۰۰ دارو در هفته هفتم افزایش معنی‌داری (در سطح $P < 0/05$) نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد.

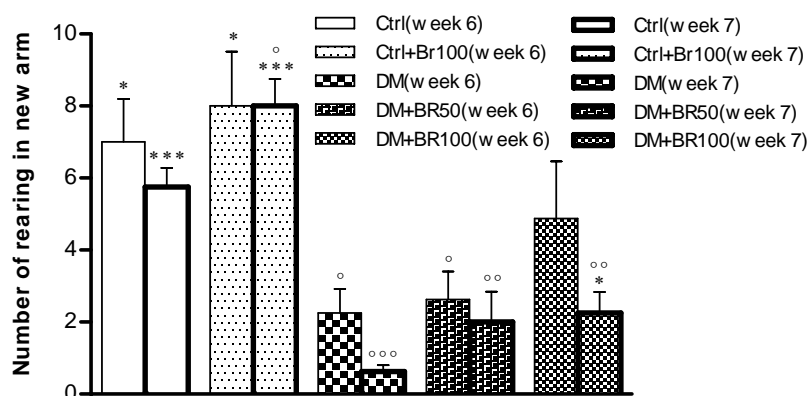
جدول ۱: مقایسه (میانگین \pm انحراف معیار) وزن و قند بین گروه‌های مختلف در طول دوره آزمایش

	وزن بدن (گرم)				گلوکز خون (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)			
	هفته اول	هفته سوم	هفته پنجم	هفته هفتم	هفته اول	هفته سوم	هفته پنجم	هفته هفتم
کنترل	۱۰۲/۴ \pm ۱۱/۶۷	۹۷ \pm ۷/۶۳۵	۹۸/۶۳ \pm ۹/۱۶۴	۹۷/۵ \pm ۷/۳۸۷	۲۴۲/۳ \pm ۲۲/۶۳	۲۶۲/۳ \pm ۲۲/۸۶	۳۱۰/۹ \pm ۳۴/۹۸	۳۳۴/۴ \pm ۳۲/۷۵
کنترل+دارو (۱۰۰ mg/kg)	۸۴/۷۵ \pm ۵/۹۷	۸۳ \pm ۶/۵۹	۷۷ \pm ۶/۴۱۴	۷۳/۵ \pm ۳/۹۶۴	۲۳۳ \pm ۱۵/۹۸	۲۴۵ \pm ۱۹/۴۷	۲۵۴/۳ \pm ۳۳/۴۷	۲۶۵/۴ \pm ۲۲/۲۴
کنترل دیابتی	۴۷۴/۳ \pm ۷۵/۸۱	۵۱۱/۴ \pm ۶۵/۶۳	۵۴۶/۸ \pm ۵۳/۶۶	۵۶۷/۳ \pm ۶۳/۸۴	۲۳۲ \pm ۱۷/۶۷	۲۰۱/۴ \pm ۲۷/۰۲	۱۷۷/۸ \pm ۲۹/۷۱	۱۵۲ \pm ۱۹/۲
دیابتی+دارو (۵۰ mg/kg)	۴۷۵/۹ \pm ۱۱۱/۹	۴۶۶/۱ \pm ۹۸/۴۷	۴۳۹/۸ \pm ۹۶/۶۶	۴۳۰/۸ \pm ۹۵/۳۸	۲۴۶/۴ \pm ۱۶/۷۲	۲۲۵/۴ \pm ۱۷/۳	۲۱۱/۳ \pm ۲۰/۶۸	۱۹۷/۶ \pm ۲۱/۶۷
دیابتی+دارو (۱۰۰ mg/kg)	۴۷۰/۴ \pm ۱۲۱/۲	۴۲۸/۹ \pm ۱۰۶/۵	۴۰۱/۹ \pm ۸۶/۷۳	۳۹۵ \pm ۸۰/۵۴	۲۵۰ \pm ۲۲/۸۳	۲۳۳/۸ \pm ۲۴/۶۳	۲۲۲/۸ \pm ۲۶/۴۲	۲۱۷/۱ \pm ۲۷/۰۹

مقایسه وزن و قند خون در هفته اول و سوم و پنجم و هفتم بین گروه‌های کنترل، کنترل تیمار شده با دوز ۱۰۰ mg/kg بربرین هیدروکلراید، دیابتی، دیابتی تیمار شده با دوز ۱۰۰ mg/kg بربرین هیدروکلراید، دیابتی تیمار شده با دوز ۵۰ mg/kg بربرین هیدروکلراید، نتایج به صورت (میانگین \pm انحراف معیار) بیان شده است و تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی در (سطح $P < 0/05$) را با * و در (سطح $P < 0/01$) را با ** و در (سطح $P < 0/001$) را با *** و تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل در (سطح $P < 0/05$) را با 0 و در (سطح $P < 0/01$) را با 00 و در (سطح $P < 0/001$) را با 000 نشان داده شده است.



نمودار ۱: مقایسه تعداد حرکت در بازوی جدید Y-maze در هفته ششم و هفتم بین گروه‌های Ctrl=کنترل، Ctrl+BR100=کنترل تیمار شده با دوز ۱۰۰ mg/kg بربرین‌هیدروکلراید، Dm=دیابت، Dm+BR100=دیابتی تیمار شده با دوز ۱۰۰ mg/kg بربرین‌هیدروکلراید، Dm+BR50=کنترل تیمار شده با دوز ۵۰ mg/kg بربرین‌هیدروکلراید، نتایج به صورت (میانگین ± انحراف معیار) بیان شده است و تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی در سطح $P < 0.05$ را با * و در سطح $P < 0.01$ را با ** و در سطح $P < 0.001$ را با *** و تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل در سطح $P < 0.05$ را با 0 و در سطح $P < 0.01$ را با 00 و در سطح $P < 0.001$ را با 000 نشان داده شده است.



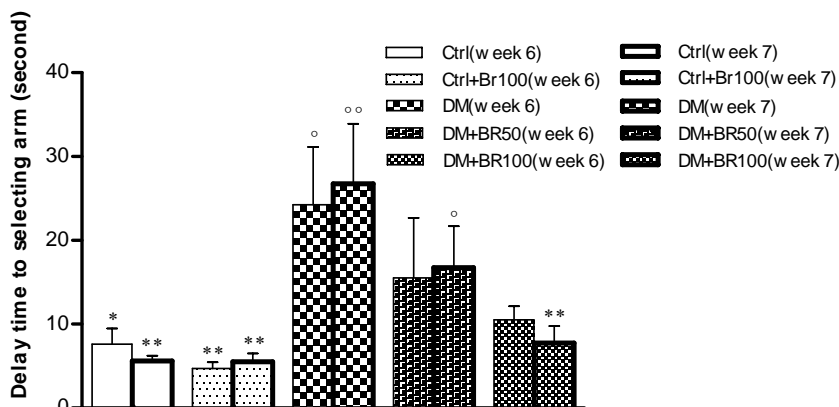
نمودار ۲: مقایسه تعداد ایستادن در بازوی جدید Y-maze در هفته ششم و هفتم بین گروه‌های Ctrl=کنترل، Ctrl+BR100=کنترل تیمار شده با دوز ۱۰۰ mg/kg بربرین‌هیدروکلراید، Dm=دیابت، Dm+BR100=دیابتی تیمار شده با دوز ۱۰۰ mg/kg بربرین‌هیدروکلراید، Dm+BR50=کنترل تیمار شده با دوز ۵۰ mg/kg بربرین‌هیدروکلراید، نتایج به صورت (میانگین ± انحراف معیار) بیان شده است و تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی در سطح $P < 0.05$ را با * و در سطح $P < 0.01$ را با ** و در سطح $P < 0.001$ را با *** و تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل در سطح $P < 0.05$ را با 0 و در سطح $P < 0.01$ را با 00 و در سطح $P < 0.001$ را با 000 نشان داده شده است.

معنی‌داری (در سطح $P < 0.01$) نسبت به گروه کنترل دیابتی دارد.

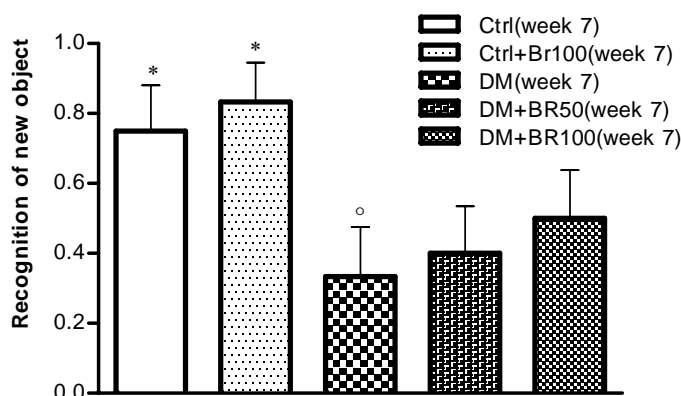
نمودار ۳: آزمون مقایسه شناخت اشیاء در هفته هفتم، نشان داد که دو گروه دیابتی تیمار با دارو افزایش شناخت غیرمعنی داری را نسبت به گروه دیابتی نشان داده و نیز گروه کنترل تیمار با دارو هم افزایش شناخت غیرمعنی-داری نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد.

نمودار ۲: مقایسه تعداد ایستادن در بازوی جدید Y-maze نشان می‌دهد در هفته هفتم گروه دیابتی تیمار شده با دوز ۱۰۰ mg/kg دارو افزایش معنی‌داری (در سطح $P < 0.05$) نسبت به گروه کنترل دیابتی نشان داده و همچنین در گروه کنترل تیمار شده با دوز ۱۰۰ mg/kg دارو در هفته هفتم افزایش معنی‌داری (در سطح $P < 0.05$) نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد.

نمودار ۳: ارزیابی مدت زمان تأخیر در انتخاب یکی از بازوها در Y-maze نیز مشخص می‌نماید که گروه دیابتی تیمار شده با دوز ۱۰۰ mg/kg دارو در هفته هفتم کاهش



نمودار ۳: مقایسه مدت زمان تأخیر در انتخاب بازو Y maze در هفته ششم و هفتم بین گروه‌های Ctrl=کنترل، Ctrl+BR100=کنترل تیمار شده با دوز ۱۰۰ mg/kg بربرین هیدروکلراید، Dm=دیابت، Dm+BR100=دیابتی تیمار شده با دوز ۱۰۰ mg/kg بربرین هیدروکلراید، Dm+BR50=کنترل تیمار شده با دوز ۵۰ mg/kg بربرین هیدروکلراید، نتایج به صورت (میانگین ± انحراف معیار) بیان شده است و تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی در سطح (P < ۰/۰۵) را با * و در سطح (P < ۰/۰۱) را با ** و تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل در سطح (P < ۰/۰۵) را با ° و در سطح (P < ۰/۰۱) را با °° نشان داده شده است.



نمودار ۴: مقایسه شناخت شیء جدید از قدیم در هفته هفتم بین گروه‌های Ctrl=کنترل، Ctrl+BR100=کنترل تیمار شده با دوز ۱۰۰ mg/kg بربرین هیدروکلراید، Dm=دیابت، Dm+BR100=دیابتی تیمار شده با دوز ۱۰۰ mg/kg بربرین هیدروکلراید، Dm+BR50=کنترل تیمار شده با دوز ۵۰ mg/kg بربرین هیدروکلراید، نتایج به صورت (میانگین ± انحراف معیار) بیان شده است و تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی در سطح (P < ۰/۰۵) را با * و تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل در سطح (P < ۰/۰۵) را با ° نشان داده شده است.

بحث

پیشگیری از ایجاد اختلالات شناخت فضایی و شناخت اشیاء در گروه‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین می‌باشد. بربرین هیدروکلراید آنتی‌اکسیدان مهم و دارای خواص ضد التهابی است (۲۷). این دارو اثری مهارتی بر سیکوآکسیژناز ۲ داشته PGE2 را کاهش داده و نقش ترمیمی در سیستم عصبی ایفا می‌کند (۲۷، ۲۸). هم‌چنین برخی از محققین نشان داده‌اند که بربرین هیدروکلراید منجر به افزایش اینترلوکین 1β و iNOS می‌گردد. به نظر می‌رسد، بربرین-

در این مطالعه نشان داده شد که تجویز خوراکی بربرین هیدروکلراید در موش‌های صحرایی دیابتی، به مدت شش هفته علاوه بر کاهش قند، به‌طور معنی‌داری سبب افزایش عملکرد شناخت فضایی و نیز افزایش توانایی حیوان در شناسایی اشیاء گردید. در واقع افزایش تعداد دفعات ورود و نیز ایستادن در بازوی جدید، کاهش زمان برای انتخاب بازو در Y maze و افزایش شناخت شیء جدید، نشان‌دهنده تأثیر بربرین هیدروکلراید در

هیدروکلراید در پیشگیری از اختلالات مرتبط با شناخت فضایی و شناسایی اشیاء را به نقش این دارو در کاهش قند در نمونه‌های دیابتی نسبت داد. علاوه بر مکانیسم‌های احتمالی فوق‌الذکر، مطالعات اخیر بر نقش مخرب استرس اکسیراتیو در بیماران دیابتی و معرفی آنتی‌اکسیدان‌ها به عنوان یک روش درمانی تأکید می‌نماید (۳۹-۳۶).

شایان ذکر است بربرین هیدروکلراید اثری مهاری بر لیپواکسیژناز (۲۱) و گزانتین‌اکسیداز (۲۲) اعمال می‌نماید. این آنزیم‌ها، منابع مهم ایجادکننده ROS بوده و این توانایی بیانگر خاصیت آنتی‌اکسیدان بربرین هیدروکلراید می‌باشد که بخش عمده‌ای از آثار محافظت نورونی این دارو در برابر اختلالات شناختی، را به این مکانیسم نسبت می‌دهند. علاوه بر این محققین نشان داده‌اند که بربرین-هیدروکلراید قادر است، از تخریب سلول‌های پانکراس به ویژه سلول‌های β در مقابل استرس اکسیداتیو در رت‌های دیابتی نیز جلوگیری نماید (۲۰).

با توجه به خواص ذکر شده در پژوهش‌های قبل و نتایج به‌دست آمده در این مطالعه، به نظر می‌رسد که این دارو به سبب خصوصیات فارماکولوژیک خود با نقش کاهش دهنده استرس اکسیداتیو از یک سو و نیز اثر کاهنده قند خون (۴۰)، سبب بهبود نوروپاتی‌های ناشی از دیابت نیز می‌گردد که باید مورد بررسی بیشتری قرار گیرد. هم‌چنین با توجه به عوارض جانبی سایر داروها نسبت به داروهای گیاهی، انجام کارآزمایی بالینی و تأیید آثار آن در نمونه‌های انسانی امید می‌رود که بتوان از آن به‌عنوان یک داروی همراه در بهبود آسیب‌های شناختی و اختلالات مرتبط با حافظه و یادگیری در بیماران دیابتی استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری به مجوز می‌باشد. نویسندگان این مقاله بر خود وظیفه می‌دانند که از زحمات سرکار خانم

هیدروکلراید قادر است با افزایش ماکروفاژهای فعالیت فاگوسیتوزی آنها را افزایش دهد. در ضمن منجر به آزاد شدن اینترلوکین 1β توسط ماکروفاژهای صفاقی شود. هم‌چنین به‌نظر می‌رسد که اینترلوکین 1β باعث القاء میکروگلیاهای ماکروفاژی و آستروسیت‌ها شده و تولید و ترشح فاکتور رشد شبه انسولینی از ماکروفاژها را تحریک می‌کند و این فاکتور سبب بازسازی میلین‌ها و ترمیم بافت مغزی می‌شود. هم‌چنین مشاهده شده که فقدان iNOS منجر به تخریب نورونی و فعالیت کاسپاز ۳ می‌شود. بنابراین به نظر می‌رسد، بربرین قادر است پاتوژنز دیابت را از طریق افزایش بیان iNOS نیز بهبود بخشد (۲۴).

بربرین هیدروکلراید اثر مهاری بر آنزیم استیل-کولین‌استراز و منوآمینواکسیداز دارد (۲۸-۳۱) و سطح نوراپی‌نفرین، سروتونین، دوپامین مغز را به ویژه در هیپوکمپ و قشر فرونتال افزایش داده (۳۲)، در دوزهای زیاد (بیش از ۱۰۰ mg/kg تا ۵۰۰ mg/kg) سطح سروتونین، دوپامین و نوراپی‌نفرین را در ساقه مغزی کاهش می‌دهد (۳۳).

Dhir و همکارانش نشان دادند که بربرین-هیدروکلراید نقش معکوس و آنتاگونیستی بر گیرنده آلفا ۲ آدرنژیک در غشای سلول پس‌سیناپسی ایفا نموده، سبب افزایش نوروترنسمیترهای آدرنژیک می‌شود (۳۴). بنابراین نقش بربرین هیدروکلراید در پیشگیری از آثار مخرب ناشی از دیابت را می‌توان به تعدیل عملکرد نوروترنسمیترها نسبت داد. مشابه با نتایج بدست آمده توسط سایر محققان، در این تحقیق ما نشان دادیم که در گروه‌های کنترل تیمار شده، مصرف طولانی مدت دارو اثر تعدیل‌کننده‌ای بر وزن گذاشته و مانع از افزایش وزن شدید و چاقی نمونه‌ها می‌گردد.

در مجموع شواهد متعددی اختلالات مرتبط با یادگیری و حافظه را در بیماران دیابتی نشان داده و ارتباط معنی‌داری را بین هیپرگلیسمی و این اختلالات نشان داده‌اند (۳۵،۳۶). لذا می‌توان بخشی از آثار بربرین-

کارشناسان محترم آزمایشگاه دانشکده بهداشت شاهرود
تشکر و قدردانی نمایند.

نوروزی مسؤول محترم آزمایشگاه دانشکده بهداشت
شاهرود، سرکار خانم داوردوست و سرکار خانم فضلی

References

- Guyton AC, Hall JE. Textbook of medical physiology. 11th ed. Philadelphia : Elsevier Saunders;2006.
- Pop-Busui R, Sima A, Stevens M. Diabetic neuropathy and oxidative stress. *Diabetes Metab Res Rev.* 2006;22(4):257-73.
- Jakus V, Rietbrock N. Advanced glycation end-products and the progress of diabetic vascular complications. *Physiol Res.* 2004;53(2):131-42.
- Jawa A, Kcomt J, Fonseca VA. Diabetic nephropathy and retinopathy. *Med Clin North Am.* 2004;88(4):1001-36
- Wändell PE. Quality of life of patients with diabetes mellitus. An overview of research in primary health care in the Nordic countries. *Scand J Prim Health Care.* 2005;23(2):68-74.
- Yagihashi S, Yamagishi SI, Wada Ri R, Baba M, Hohman TC, Yabe-Nishimura C, et al. Neuropathy in diabetic mice overexpressing human aldose reductase and effects of aldosereductase inhibitor. *Brain.* 2001;124(Pt 12):2448-58.
- Pop-Busui R, Marinescu V, Van Huysen C, Li F, Sullivan K, Greene DA, et al. Dissection of metabolic, vascular, and nerve conduction interrelationships in experimental diabetic neuropathy by cyclooxygenase inhibition and acetyl-L-carnitine administration. *Diabetes.* 2002;51(8):2619-28.
- Kellogg AP, Pop-Busui R. Peripheral nerve dysfunction in experimental diabetes is mediated by cyclooxygenase-2 and oxidative stress. *Antioxid Redox Signal.* 2005;7(11-12):1521-9.
- Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, Yamagishi S, Matsumura T, Kaneda Y, et al. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature.* 2000;404(6779):787-90.
- Liu Q, Chen L, Hu L, Guo Y, Shen X. Small molecules from natural sources, targeting signaling pathways in diabetes. *Biochim Biophys Acta.* 2010;1799(10-12):854-65
- Galer BS, Gianas A, Jensen MP. Painful diabetic polyneuropathy: epidemiology, pain description, and quality of life. *Diabetes Res Clin Pract.* 2000;47(2):123-8.
- Jackson-Guilford J, Leander JD, Nisenbaum LK. The effect of streptozotocin-induced diabetes on cell proliferation in the rat dentate gyrus. *Neurosci Lett.* 2000;293(2):91-4.
- Biessels GJ, Smale S, Duis SE, Kamal A, Gispen WH. The effect of gamma-linolenic acid-alpha-lipoic acid on functional deficits in the peripheral and central nervous system of streptozotocin-diabetic rats. *J Neurol Sci.* 2001;182(2):99-106.
- Parihar MS, Chaudhary M, Shetty R, Hemnani T. Susceptibility of hippocampus and cerebral cortex to oxidative damage in streptozotocin treated mice: prevention by extracts of *Withania somnifera* and *Aloe vera*. *J Clin Neurosci.* 2004;11(4):397-402.
- Scarano WR, Messias AG, Oliva SU, Klinefelter GR, Kempinas WG. Sexual behaviour, sperm quantity and quality after short-term streptozotocin-induced hyperglycaemia in rats. *Int J Androl.* 2006;29(4):482-8.
- Reagan LP, McEwen BS. Diabetes, but not stress, reduces neuronal nitric oxide synthase expression in rat hippocampus: implications for hippocampal synaptic plasticity. *Neuroreport.* 2002;13(14):1801-4.
- Baydas G, Nedzvetskii VS, Nerush PA, Kirichenko SV, Yoldas T. Altered expression of NCAM in hippocampus and cortex may underlie memory and learning deficits in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Life Sci.* 2003;73(15):1907-16.
- Vuddanda PR, Chakraborty S, Singh S. Berberine: a potential phytochemical with multispectrum therapeutic activities. *Expert Opin Investig Drugs.* 2010;19(10):1297-307
- Kong WJ, Zhang H, Song DQ, Xue R, Zhao W, Wei J, et al. Berberine reduces insulin resistance through protein kinase C-dependent up-regulation of insulin receptor expression. *Metabolism.* 2009;58(1):109-19.
- Zhou J, Zhou S, Tang J, Zhang K, Guang L, Huang Y, et al. Protective effect of berberine on beta cells in streptozotocin- and high-carbohydrate/high-fat diet-induced diabetic rats. *Eur J Pharmacol.* 2009;606(1-3):262-8.

21. Sharma B, Salunke R, Balomajumder C, Daniel S, Roy P. Anti-diabetic potential of alkaloid rich fraction from *Capparis decidua* on diabetic mice. *J Ethnopharmacol.* 2010;127(2):457-62.
22. Wang HD, Lu DX, Qi RB. Therapeutic strategies targeting the LPS signaling and cytokines. *Pathophysiology.* 2009;16(4):291-6.
23. Nassiri M, Khaki A, Ahmadi-Ashtiani HR, Rezazadeh Sh, Rastgar H, Gharachurlu Sh. Effects of Ginger on Spermatogenesis in Streptozotocin-induced Diabetic Rat. *Iranian J Med Plants.* 2009;8(31):118-24. (Persian).
24. Zhu F, Qian C. Berberine chloride can ameliorate the spatial memory impairment and increase the expression of interleukin-1beta and inducible nitric oxide synthase in the rat model of Alzheimer's disease. *BMC Neurosci.* 2006 Dec 1;7:78.
25. Niu L, Cao B, Zhu H, Mei B, Wang M, Yang Y, et al. Impaired in vivo synaptic plasticity in dentate gyrus and spatial memory in juvenile rats induced by prenatal morphine exposure. *Hippocampus.* 2009;19(7):649-57.
26. Labrousse VF, Costes L, Aubert A, Darnaudéry M, Ferreira G, Amédée T, et al. Impaired interleukin-1beta and c-Fos expression in the hippocampus is associated with a spatial memory deficit in P2X(7) receptor-deficient mice. *PLoS One.* 2009;4(6):e6006.
27. Yoo KY, Hwang IK, Kim JD, Kang IJ, Park J, Yi JS, et al. Anti-inflammatory effect of the ethanol extract of *Berberis koreana* in a gerbil model of cerebral ischemia/reperfusion. *Phytother Res.* 2008;22(11):1527-32.
28. Dhir A, Naidu PS, Kulkarni SK. Neuroprotective effect of nimesulide, a preferential COX-2 inhibitor, against pentylenetetrazol (PTZ)-induced chemical kindling and associated biochemical parameters in mice. *Seizure.* 2007;16(8):691-7.
29. Kuznetsova LP, Nikol'skaia EB, Sochilina EE, Faddeeva MD. Inhibition by various alkaloids of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase from human blood. *Zh Evol Biokhim Fiziol.* 2002;38(1):28-31.
30. Kong LD, Cheng CH, Tan RX. Monoamine oxidase inhibitors from rhizoma of *Coptis chinensis*. *Planta Med.* 2001;67(1):74-6.
31. Kuznetsova LP, Sochilina EE, Faddeeva MD, Iagodina OV. Effect of some isoquinoline alkaloids on enzymatic activity of acetylcholinesterase and monoamine oxidase. *Ukr Biokhim Zh.* 2005;77(2):147-53.
32. Peng WH, Lo KL, Lee YH, Hung TH, Lin YC. Berberine produces antidepressant-like effects in the forced swim test and in the tail suspension test in mice. *Life Sci.* 2007;81(11):933-8.
33. Peng WH, Wu CR, Chen CS, Chen CF, Leu ZC, Hsieh MT. Anxiolytic effect of berberine on exploratory activity of the mouse in two experimental anxiety models: interaction with drugs acting at 5-HT receptors. *Life Sci.* 2004;75(20):2451-62.
34. Dhir A, Kulkarni SK. Effect of addition of yohimbine (alpha-2-receptor antagonist) to the antidepressant activity of fluoxetine or venlafaxine in the mouse forced swim test. *Pharmacology.* 2007;80(4):239-43.
35. Tuzcu M, Baydas G. Effect of melatonin and vitamin E on diabetes-induced learning and memory impairment in rats. *Eur J Pharmacol.* 2006;537(1-3):106-10.
36. Biessels GJ, Kerksen A, de Haan EH, Kappelle LJ. Cognitive dysfunction and diabetes: implications for primary care. *Prim Care Diabetes.* 2007;1(4):187-93.
37. Kucukatay V, Açar A, Gumuslu S, Yargıçoğlu P. Effect of sulfur dioxide on active and passive avoidance in experimental diabetes mellitus: relation to oxidant stress and antioxidant enzymes. *Int J Neurosci.* 2007;117(8):1091-107.
38. Stewart R, Liolitsa D. Type 2 diabetes mellitus, cognitive impairment and dementia. *Diabet Med.* 1999;16(2):93-112.
39. Tuma I. Diabetes mellitus and cognitive impairments. *Vnitr Lek.* 2007; 53(5):486-8.
40. Gu Y, Zhang Y, Shi X, Li X, Hong J, Chen J, et al. Effect of traditional Chinese medicine berberine on type 2 diabetes based on comprehensive metabolomics. *Talanta.* 2010;81(3):766-72.

The effect of berberine hydrochloride on cognitive dysfunction in streptozotocin- induced diabetic rats

Vaezi Gh., Ph.D

Department of Physiology, Islamic Azad University, Damghan, Iran.

Kalalian Moghaddam H., Ph.D

Department of Physiology, Faculty of Medicine, Shahrood University of Medical Sciences, Shahrood, Iran.

Mesripour Alavijeh M., M.Sc

Department of Physiology, Islamic Azad University, Damghan, Iran.

Salimi M., M.Sc

Department of Physiology, Islamic Azad University, Damghan, Iran.

Received:30/04/2012, Revised:04/06/2012, Accepted:23/08/2012

Correspondence Athour:

Mahnaz Mesripour Alavijeh,
Department of Physiology, Islamic
Azad University, Damghan, Iran.
E-mail:
Shahrood_alavi@yahoo.com

Abstract

Background: Increasing evidence has shown that diabetes induces cognitive dysfunction and impairs learning and memory. Berberine, which is an isoquinoline alkaloid with multiple pharmacological effects including anti-diabetic and antioxidant activity, could improve learning and spatial memory impairment in STZ-induced diabetes in rats.

Material and methods: Male Wistar rats (n = 40) were randomly allocated and similarly grouped into control, berberine-treated non-diabetic (100 mg/kg), diabetic, and berberine-treated diabetic (50, 100 mg/kg) groups. Diabetes was induced by STZ administration at the dose of 55 mg/kg through i.p. route. Berberine hydrochloride was administered p.o. at doses of 50 and 100 mg/kg/day 1 week after STZ injection for a period of 6 weeks. Blood samples were taken from the tail vein 1, 3, 5, and 7 weeks after STZ injection to measure blood glucose levels. Behavioral tests, including spatial recognition and objective recognition, were performed at the end of the study as described below.

Results: Berberine-treated diabetic groups (50, 100 mg/kg/day) showed dose-dependent significant differences with diabetic group in spatial recognition and objective recognition tests, including the number of entries into the new arms and also the number of rearings into the new arms of Y maze. Moreover, compared with the diabetic group, objective recognition test score increased in berberine-treated diabetic group (50, 100 mg/kg), but not significantly.

Conclusion: Berberine hydrochloride administration for 6 weeks improves cognitive dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats.

Key words: Diabetes Mellitus; Berberine; Cognitive Impairment; Memory; Learning.