

تاثیر توام بربرین هیدروکلراید و ویتامین E بر اختلالات یادگیری و حافظه در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

دکتر حمید کلایان مقدم^۱، دکتر غلامحسین واعظی^۲، مهناز مصری پور علویجه^۳، معصومه سلیمی^۴، فاطمه قنبری^۵

نویسنده‌ی مسوول: دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دانشکده‌ی علوم پایه

Shahrood_alavi@yahoo.com

دریافت: ۹۲/۳/۳۰ پذیرش: ۹۳/۵/۴

چکیده

زمینه و هدف: تحقیقات اخیر نشان داده، بیماری دیابت منجر به بروز اختلالات شناختی، یادگیری و حافظه‌ای می‌شود. بربرین آلکالوئیدی ایزوکوئینولین و ویتامین E آنتی‌اکسیدانی محلول در چربی است که آثار ضد دیابتی و آنتی‌اکسیدانی دارند. لذا در این مطالعه تاثیر توام بربرین هیدروکلراید و ویتامین E بر اختلالات شناختی ناشی از دیابت ارزیابی شد.

روش بررسی: در این مطالعه ۴۸ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به‌طور تصادفی انتخاب و به شش گروه کنترل، کنترل تیمار شده با ویتامین E (۳۰mg/kg)، دیابتی و دیابتی تیمار شده با بربرین هیدروکلراید (۱۰۰mg/kg) و دیابتی تیمار شده با ویتامین E (۳۰mg/kg) و دیابتی تیمار شده با هر دو ویتامین E (۳۰ mg/kg) و بربرین هیدروکلراید (۱۰۰mg/kg)، تقسیم شدند. ابتدا دیابت با تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین با دز (۵۵mg/kg) به‌صورت درون صفاقی القا گردید. یک هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین، تیمار با بربرین هیدروکلراید و ویتامین E به‌مدت شش هفته به‌صورت خوراکی انجام گردید. قندخون در هفته‌های ۱، ۳، ۵ و ۷ با خون‌گیری از سیاهرگ دمی سنجش و در پایان گروه‌ها با آزمون‌های رفتاری شناخت فضایی و شناخت اشیا ارزیابی شدند.

یافته‌ها: در گروه دیابتی درمان شده با ویتامین E و بربرین هیدروکلراید بهبودی معنی داری، در انجام آزمون‌های رفتاری، در مقایسه با گروه دیابتی کنترل، دیابتی درمان شده با ویتامین E و گروه دیابتی تحت درمان با بربرین هیدروکلراید مشاهده گردید. همچنین نمرات آزمون شناختی نیز به‌طور مشابهی در این گروه افزایش یافت.

نتیجه‌گیری: تجویز توام بربرین هیدروکلراید و ویتامین E به‌مدت شش هفته سبب بهبود اختلالات شناختی در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین می‌شود.

واژگان کلیدی: دیابت ملیتوس، بربرین هیدروکلراید، ویتامین E، شناخت فضایی، شناخت اشیا

۱- دکترای تخصصی فیزیولوژی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی شاهرود

۲- دکترای تخصصی فیزیولوژی، استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان

۳- دانشجوی دکترای تخصصی فیزیولوژی جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان

۴- کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان

۵- کارشناسی ارشد تکوین، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان

مقدمه

بیماری دیابت، مجموعه‌ای از اختلالات پیچیده در متابولیسم پروتئین، چربی و کربوهیدرات‌ها می‌باشد که بر اثر کمبود یا کاهش نسبی انسولین و یا کاهش حساسیت بافت‌ها نسبت به انسولین ایجاد می‌شود. دیابت عوارض متابولیکی حاد نظیر کتواسیدوز، اغمای هیپراسمولار و اختلالات متعددی در سیستم قلب و گردش خون ایجاد نموده و باعث عوارض مزمن نامطلوب نظیر ضایعات پوستی رتینوپاتی، نفروپاتی، نوروپاتی می‌شود (۱). 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 است (۲). دیابت موجب کاهش تراکم نورون‌هایی در ناحیه شکنج دندان‌دار گردیده که ناحیه در فرایندهای یادگیری و حافظه نقش موثری دارد (۳). هم‌چنین کاهش بیان مولکول‌های اتصال دهنده سلول‌های عصبی (NCAM: Neural Cell Adhesion Molecule) در نواحی مختلف مغز حیوانات دیابتی به‌ویژه هیپوکمپ، قشر مخ و مخچه نیز در بیماران دیابتی گزارش گردیده است (۴). 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 به‌خوبی مشخص نشده است، اما شواهدی مبنی بر دو فرضیه‌ی میکروواسکولار و استرس اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن مطرح است (۷). از این رو به‌منظور برطرف کردن آسیب‌های اکسیداتیو، محققین از داروهای متعدد با خاصیت آنتی‌اکسیدان از جمله: ویتامین A، ویتامین C، بتاکاروتن استفاده نموده‌اند (۶).

بربرین هیدروکلراید آلکالوئیدی گیاهی با تاریخ درمانی بسیار طولانی است که در طب سنتی ایران، چین و هند

کاربرد داشته‌است. این آلکالوئید در ریشه، ریزوم و ساقه و پوست بسیاری از گیاهان خانواده *Coptis chinensis* و *Berberis vulgaris* وجود دارد (۷). این ترکیب دارای آثار ضد میکروبی و ضد پروتوزوایی و ضد اسهالی و ضد سرطانی و کاهنده‌ی چربی و فشار خون و قند 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 در کشت‌های سلولی کبد انسان و ماهیچه‌ی اسکلتی افزایش داده (۸) و از تخریب سلول‌های پانکراس به‌ویژه سلول‌های β در مقابل استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی دیابتی جلوگیری نموده (۹) و اثر مهاری بر لیپواکسیژناز (۱۰) و گزانتین اکسیداز (۱۱) اعمال می‌نماید. این آنزیم‌ها، دو منبع مهم ایجادکننده Reactive Oxygen Species (ROS) بوده، این توانایی بیانگر خاصیت آنتی‌اکسیدانی بربرین هیدروکلراید می‌باشد. با توجه به شواهد متعدد که نشان دهنده‌ی نقش موثر بربرین هیدروکلراید در کاهش عوارض هیپرگلیسمی و تنظیم اختلالات اکسیداتیو ناشی از القای دیابت می‌باشد، به‌نظر می‌رسد بربرین هیدروکلراید در داروهای ماکروژنیک به‌طور درازمدت می‌تواند تاثیر نامطلوب دیابت را در عملکرد شناختی از جمله شناخت فضایی و شناخت اشیا در دستگاه عصبی مرکزی بهبود بخشد که این فرضیه در این مطالعه مورد آزمون قرار گرفت.

بربرین در کورتکس پیوندهای گیرنده‌ی NMDA را کاهش داده، دارای خواص حفاظت نورونی بوده که ناشی از ایجاد تعادل در سیستم NO می‌باشد. هم‌چنین باعث افزایش در فعالیت سیستم نورونی کولینرژیک مرکزی و محیطی می‌شود. علاوه بر آن این ماده مثل یک جمع‌کننده‌ی رادیکال آزاد عمل کرده و نقش مهمی در ایجاد اختلالات حافظه‌ای در بیماری آلزایمر ایفا می‌کند (۹). ویتامین E نیز یکی از ویتامین‌های

mRNA ژن‌های آنتی‌اکسیدانی را تثبیت نماید (۱۸). با توجه به شواهد متعدد که بر نقش مؤثر هریک از ترکیبات بربرین هیدروکلراید و ویتامین E به‌تنهایی، در کاهش عوارض هیپرگلیسمی و تنظیم اختلالات اکسیداتیو ناشی از القای دیابت تاکید دارد، در این مطالعه تجویز هر دو دارو، در دز فارماکولوژیک به‌طور دراز مدت در پیشگیری از آثار نامطلوب دیابت بر عملکرد شناختی از جمله شناخت فضایی و شناخت اشیای در دستگاه عصبی مرکزی مورد آزمون قرار گرفت.

روش بررسی

جهت انجام تحقیق از ۴۸ سر موش صحرایی نر، نژاد ویستار با وزن متوسط 240 ± 40 گرم از انستیتو پاستور کرج استفاده شد. نمونه‌ها به‌منظور انطباق با محیط، از یک هفته قبل از شروع آزمایش، در محیط آزمایشگاه با دمای 22 ± 2 درجه‌ی سلسیوس قرار گرفته و به‌طور آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. موش‌ها به‌طور تصادفی به شش گروه ۸ تایی تقسیم شدند. گروه کنترل، گروه کنترل تیمار شده با ویتامین E (30 میلی‌گرم در کیلوگرم)، گروه دیابتی، گروه دیابتی تیمار شده با بربرین هیدروکلراید (100 میلی‌گرم در کیلوگرم)، گروه دیابتی تیمار شده با ویتامین E (30 میلی‌گرم در کیلوگرم)، گروه دیابتی تیمار شده توام بربرین هیدروکلراید (100 میلی‌گرم در کیلوگرم) و ویتامین E (30 میلی‌گرم در کیلوگرم).

داروهای به‌کار رفته در این آزمایش نیز شامل بربرین هیدروکلراید (14050) و استرپتوزوتوسین ($S0130$) و α Tocopherol (T3251) بودند که همگی از شرکت سیگما خریداری شدند.

القای دیابت با تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین (55 mg/kg ip) حل شده در بافر سیترات (0.05 M) با $\text{pH} = 4.5$ انجام شد. سنجش قند خون، یک هفته بعد از تزریق (STZ) و با استفاده از خون سیاهرگ دمی، به کمک

محلول در چربی بوده، این ویتامین در حالت طبیعی به هشت فرم مختلف $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ توکوفرول و $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ توکوترینول وجود دارد. تمامی فرم‌ها دارای پتانسیل نسبی فعالیت آنتی‌اکسیدانی بوده، لیکن α توکوفرول بیشترین شکل مؤثر در جلوگیری از علائم کمبود ویتامین E می‌باشد (۱۴). این ویتامین به علت خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی تاثیر محافظتی در برابر بیماری‌های قلبی، آب مروارید، سرطان‌ها و سکتی مغزی داشته و در پیشگیری از پیری زودرس آثار بازدارنده‌ای دارد (۱۲). این ویتامین به علت خواص آنتی‌اکسیدانی قوی باعث پایدار کردن چربی‌های غیراشباع در مقابل با اکسیداسیون خودبه‌خودی شده و غشای سلولی را با متوقف کردن واکنش زنجیره‌ای رادیکال‌های آزاد حفظ نموده (۳)، هم‌چنین قادر است اثر مهار بر فعالیت آنزیم‌های لیپوکسیژناز و سیکلوکسیژناز ۲ که از آنزیم‌های مهم تولید ROS هستند، اعمال نماید (۴).

ویتامین E حساسیت انسولین را در بیماران دیابتی بهبود بخشیده و اثر مطلوبی بر عوارض ثانویه دیابت داشته (۲۰) و عملکرد پانکراس را بهبود می‌بخشد (۱۳). کاهش مالون‌دی‌آلدهید و افزایش گلوکاتایون و سوپر اکسید دسموتاز در موش‌های دیابتیک تیمار شده با ویتامین E گزارش شده است (۲۲). شمس و همکاران نشان دادند که ویتامین E با کاهش گلوکز خون در موش‌های آزمایشگاهی دیابتیک موجب کاهش این اختلالات می‌گردد (۱۴). مکمل‌های ویتامین E گلوکاتایون احیا را افزایش داده و شرایط فیزیکی غشای پلاسمایی و در واقع فعالیت غشا به عنوان انتقال دهنده‌ی گلوکز با واسطه‌ی انسولین را بهبود بخشند (۱۵).

هم‌چنین این ویتامین نقش مهمی در کاهش تولید نیتریک اکساید بر عهده دارد (۱۶). این ویتامین از طریق مکانیسم غیرآنتی‌اکسیدانی نیز اثر انسولین بر غشای سلول را با مهار فعالیت پروتئین کیناز C به صورت غیرآنزیمی بهبود می‌بخشد (۱۷). هم‌چنین شکل‌های مختلف ویتامین E قادر است

پس از ۳۰ دقیقه اشیا از نظر رنگ و شکل تعویض و مجدد هریک از موش‌های صحرایی برای مدت ۵ دقیقه در جعبه قرار گرفتند. تمامی این مدت با دوربین فیلم‌برداری شد. هنگام بررسی فیلم‌ها، چنانچه موش صحرایی برای اولین بررسی به سمت شی جدید حرکت و آن را بررسی می‌کرد به عنوان حرکت مطلوب و در صورت بی تفاوت بودن و یا بررسی شی قدیمی به عنوان حرکت نامطلوب در نظر گرفته شد. سپس آزمون آماری برای تک تک گروه‌ها با کمک برنامه‌ی Prism و آزمون Repeated Measure Two-Way ANOVA انجام گردید. گروه‌ها یک بار نسبت به گروه کنترل دیابتی و بار دیگر نسبت به گروه کنترل مورد آزمون قرار گرفتند. در تمامی بررسی‌ها $P < 0.05$ به عنوان حداقل سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

ارزیابی وزن نمونه‌ها؛ اندازه‌گیری وزن گروه‌ها هر دو هفته یک بار نشان می‌دهد. وزن موش‌های صحرایی گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل از هفته سوم به بعد کاهش یافت ($P < 0.001$). در هفته پنجم نیز گروه‌های دیابتی تیمار شده با ویتامین E یا بربرین افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل دیابتی نشان دادند ($P < 0.01$). هم‌چنین در هفته هفتم وزن گروه کنترل تیمار شده با ویتامین E (۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان داده است ($P < 0.05$).

ارزیابی میزان گلوکز پلاسما؛ میزان قند خون نمونه‌ها از هفته پنجم به بعد در گروه دیابتی تیمار شده با هر دو دارو و نیز گروه‌های دیابتی تیمار شده با یک دارو کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل دیابتی نشان داد ($P < 0.01$). هم‌چنین در گروه کنترل تیمار شده با ویتامین E کاهش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل مشاهده گردید ($P < 0.05$) (جدول ۱).

دستگاه گلوکوکارد ۰۱ USA انجام و موش‌های صحرایی دارای قند خون بالاتر ۳۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر دیابتی در نظر گرفته شدند. موش‌های دیابتی تحت درمان نیز به مدت ۶ هفته، داروی بربرین هیدروکلراید را با دز ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و ویتامین E را با دوز ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به صورت گاوژ دریافت و یک گروه کنترل نیز ویتامین E را به صورت گاوژ با دوز ۳۰ میلی‌گرم در کیلوگرم دریافت نمودند.

شش هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین، آزمون شناختی، یادگیری و حافظه‌ی فضایی توسط Y maze، با سه بازو مساوی به ابعاد ۱۵ در ۵۰ و ارتفاع ۳۰ cm، از نمونه‌ها به عمل آمد. ابتدا بازوی شماره ۳ با کمک درب گیوتینی بسته و سپس موش‌های صحرایی را به نوبت از بازوی شماره ۱ به Y maze وارد شدند و اجازه داده شد تا برای مدت ۵ دقیقه بین دو بازو رفت و آمد کنند. سپس جانور به قفس برگردانده شد، بعد از گذشت ۳۰ دقیقه مجدد از بازوی شماره ۱ جانور را وارد کرده، اما این بار درب گیوتینی بازوی شماره ۳ را باز گذاشته و اجازه داده می‌شود تا جانور برای مدت ۵ 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 تاخیر در شروع حرکت و تصمیم‌گیری برای انتخاب یک بازو از بازوهای شناخته شده و جدید ارزیابی می‌شود.

در آزمون شناسایی اشیا به مدت یک هفته هر یک از موش‌های صحرایی به مدت ۱۵ دقیقه در جعبه سفید رنگی چوبی به ابعاد ۶۰ در ۶۰ و ارتفاع ۱۶ سانتی‌متر قرار داده و در پایان روز هفتم ابتدا، دو شی یکسان را در جعبه قرار داده و به نمونه‌ها اجازه داده شد به مدت ۱۰ دقیقه به طور کامل اشیا درون جعبه را شناسایی کنند. سپس نمونه‌ها از جعبه خارج و

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

گلوکز خون (دسی‌لیتر/ میلی‌گرم)				وزن بدن (گرم)			
هفته اول	هفته سوم	هفته پنجم	هفته هفتم	هفته اول	هفته سوم	هفته پنجم	هفته هفتم
کنترل	۱۰۲/۴ $\pm$ ۱۱/۶	۹۷ $\pm$ ۷/۶	۹۷/۴ $\pm$ ۱۰/۶	۹۷/۵ $\pm$ ۷/۴	۲۴۲/۳ $\pm$ ۲۳/۶	۲۶۲/۳ $\pm$ ۲۲/۸۶	۳۳۴/۴ $\pm$ ۳۲/۸
	***	***	***	***	***	**	***
کنترل + ویتامین E	۱۰۷/۸ $\pm$ ۱۰/۵	۱۰۰/۷ $\pm$ ۱۰/۱	۸۶/۱ $\pm$ ۵/۲	۸۸/۹ $\pm$ ۳/۸	۲۴۳/۳ $\pm$ ۲۹/۷	۲۶۸/۶ $\pm$ ۱۶/۲	۳۴۷/۹ $\pm$ ۷/۳
	***	**	0**	0**	0**	**	0**
کنترل دیابتی	۴۷۴/۳ $\pm$ ۷۵/۸	۵۱۱/۴ $\pm$ ۶۵/۶	۵۴۷/۸ $\pm$ ۵۳/۷	۵۶۷/۳ $\pm$ ۶۳/۸	۲۳۲ $\pm$ ۱۷/۷	۲۰۱/۴ $\pm$ ۲۷۷	۱۵۲ $\pm$ ۱۹/۲
	000	000	000	000	000	00	000
دیابتی + بربرین	۴۷۰/۶ $\pm$ ۱۲۰/۸	۴۲۸/۹ $\pm$ ۱۰۶/۵	۴۰۱/۹ $\pm$ ۸۶/۷	۳۹۵ $\pm$ ۸۰/۵	۲۵۰ $\pm$ ۲۲/۸	۲۳۳/۸ $\pm$ ۲۴/۶۳	۲۱۷/۱ $\pm$ ۲۷/۱
	000	000	000**	000**	000**	000**	000**
دیابتی + ویتامین E	۴۶۷/۹ $\pm$ ۱۱۰/۴	۴۴۳/۷ $\pm$ ۸۸/۱	۴۳۳/۷ $\pm$ ۶۲/۲	۴۲۱/۲ $\pm$ ۹۵/۶	۲۵۶/۹ $\pm$ ۱۵/۶	۲۴۳/۱ $\pm$ ۱۱/۱۷	۲۲۷ $\pm$ ۷/۱
	00	00	00**	00**	00**	000**	00**
دیابتی + ویتامین E و بربرین	۴۶۷/۹ $\pm$ ۱۲۳/۳	۴۳۲/۹ $\pm$ ۹۳/۴	۳۸۵/۴ $\pm$ ۴۳/۶	۳۳۸ $\pm$ ۳۱/۵	۲۲۹/۴ $\pm$ ۱۶/۲	۲۱۱/۴ $\pm$ ۲۵/۲۲	۲۰۲/۳ $\pm$ ۱۶/۲
	00	00	00**	00**	00**	00	00**

مقایسه‌ی وزن و قند خون در هفته‌ی اول و هفته‌ی سوم و پنجم و هفتم بین گروه‌ها نتایج به صورت (میانگین $\pm$ 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 در (سطح $P < ۰/۰۰۱$) را با *** و تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل در (سطح $P < ۰/۰۵$) را با ^o و در (سطح $P < ۰/۰۱$) را با ^{oo} و در (سطح $P < ۰/۰۰۱$) را با ^{ooo} نشان داده شده است.

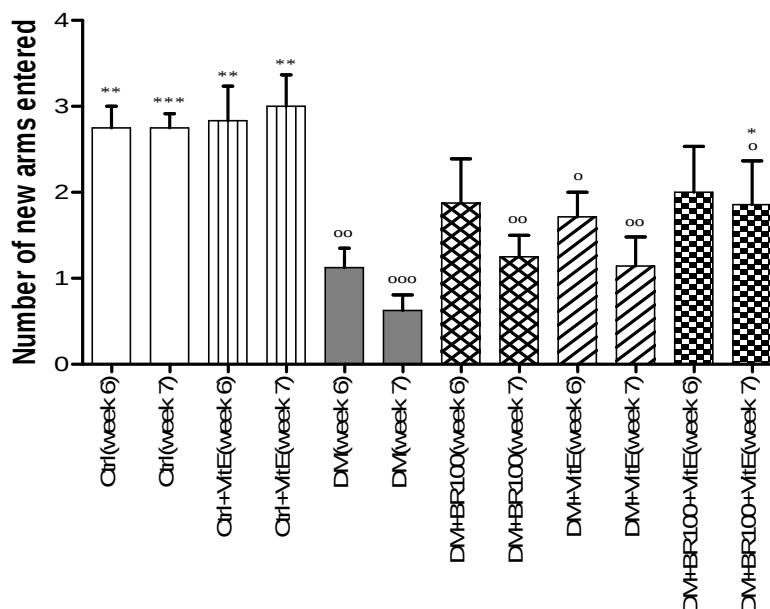
ارزیابی رفتاری: آزمون‌های شناختی یادگیری و حافظه فضایی: تعداد حرکت به سمت بازوی جدید: در هفته‌ی هفتم نمرات این آزمون در گروه دیابتی تیمار شده با هر دو دارو نسبت به گروه کنترل دیابتی افزایش معنی‌داری را نشان داده است ($P < ۰/۰۵$). در صورتی که تجویز هریک از دو دارو به تنهایی سبب افزایش این شاخص نسبت به گروه دیابتی شده، اما معنی‌دار نبوده است که برتری استفاده‌ی توام دو دارو را مشخص می‌کند (نمودار ۱).

تعداد ایستادن در بازوی جدید: در هفته‌ی هفتم در گروه دیابتی تیمار شده با بربرین هیدروکلراید (۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و گروه دیابتی تیمار شده با هر دو دارو افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل دیابتی به ترتیب در سطح ($P < ۰/۰۵$) و ($P < ۰/۰۱$) نشان دادند. برتری تجویز توام دو دارو به گروه دیابتی نسبت به تجویز تنها ویتامین E به گروه دیابتی در این آزمون نیز مشهود است (نمودار ۲).

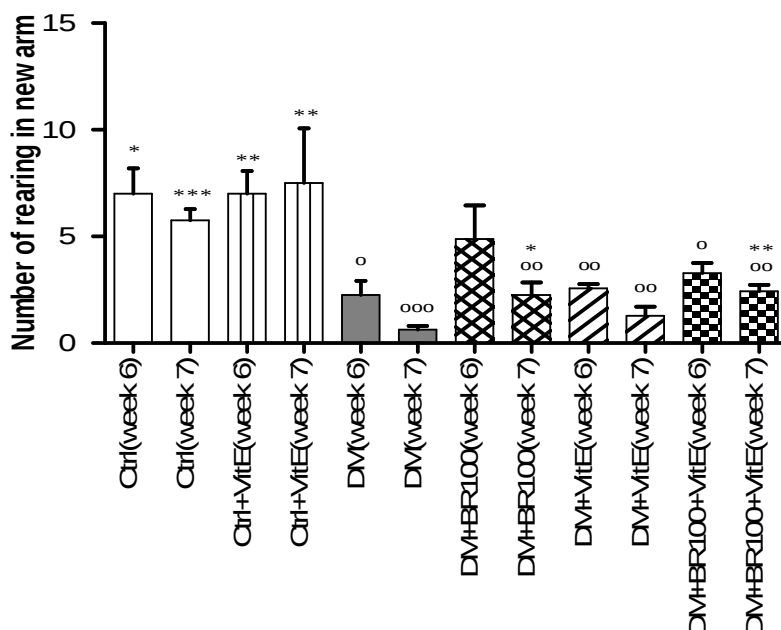
مدت زمان تاخیر در انتخاب بازوی جدید: از هفته‌ی ششم در گروه دیابتی تیمار شده با دو دارو به‌طور توام، کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل دیابتی نشان داده است ($P < ۰/۰۵$). از آن جا که در گروه‌های دیابتی تیمار شده با هر یک از این دو دارو به تنهایی در این زمان کاهش غیرمعنی‌داری را نشان داده‌اند، تاثیر سریع‌تر تجویز توام دو دارو مشخص می‌گردد. هم‌چنین در هفته‌ی هفتم کاهش معنی‌دار این شاخص نسبت به گروه کنترل دیابتی، در گروه دیابتی تیمار شده با هر یک از این دو دارو به تنهایی در سطح ($P < ۰/۰۵$) و در گروهی که هر دو دارو را توام دریافت نموده‌اند، در سطح ($P < ۰/۰۱$) مشاهده شد (نمودار ۳).

آزمون شناخت شی جدید: در هفته‌ی هفتم، نمونه‌ها در گروه‌های دیابتی تحت درمان با هریک از دو دارو به تنهایی و نیز گروه دیابتی تحت درمان توام با ویتامین E و

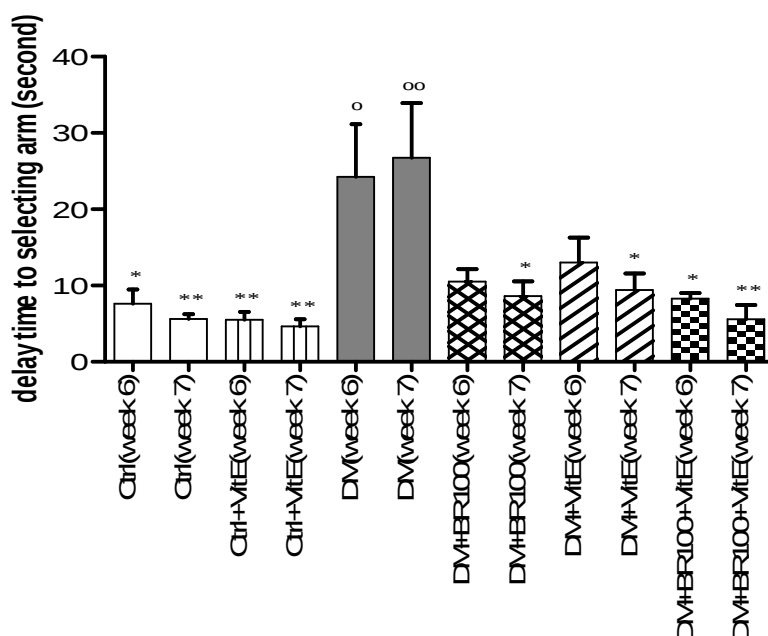
بربرترین هیدروکلراید، نسبت به گروه دیابتی افزایش غیرمعنی داری را نشان دادند (نمودار ۴).



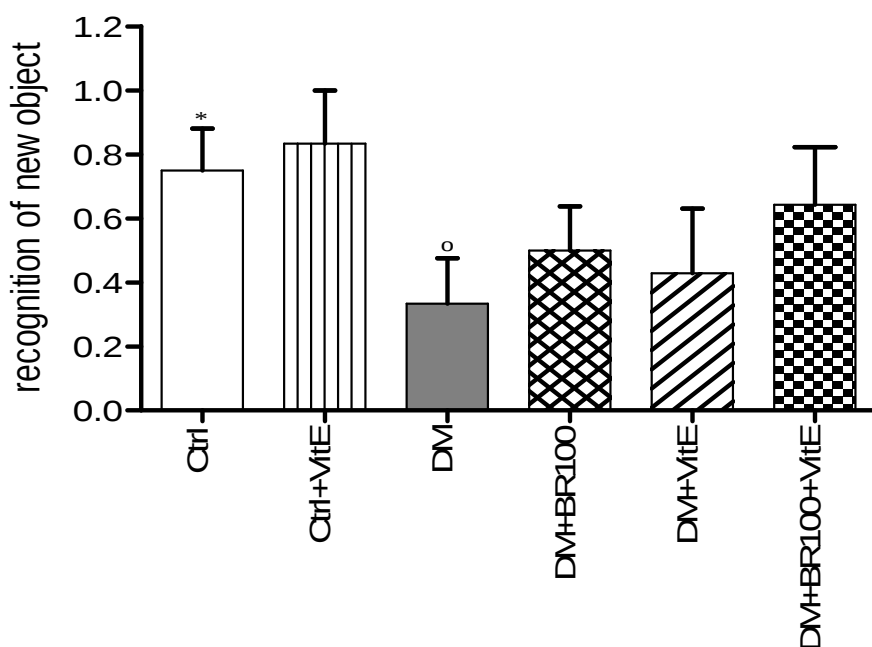
نمودار ۱: مقایسه‌ی تعداد حرکت در بازوی جدید Y-maze در هفته‌ی ششم و هفتم بین گروه‌ها، نتایج به صورت (میانگین $\pm$ انحراف معیار) بیان شده است و تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی در (سطح $P < 0.05$) را با * و در (سطح $P < 0.01$) را با ** و در (سطح $P < 0.001$) را با *** و تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل در (سطح $P < 0.05$) را با ° و در (سطح $P < 0.01$) را با °° و در (سطح $P < 0.001$) نشان داده شده است.



نمودار ۲: مقایسه‌ی تعداد ایستادن در بازوی جدید Y-maze در هفته‌ی ششم و هفتم بین گروه‌ها، 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 ° و در (سطح $P < 0.01$) را با °° و در (سطح $P < 0.001$) نشان داده شده است.



نمودار ۳. مقایسه‌ی مدت زمان تاخیر در انتخاب بازو Y-maze در هفته‌ی ششم و هفتم بین گروه‌ها. 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 ^o و در (سطح $P < 0.01$) را با ^{oo} نشان داده شده است.



نمودار ۴. مقایسه‌ی شناخت شی جدید در هفته هفتم بین گروه‌ها. نتایج به صورت (میانگین $\pm$ انحراف معیار) بیان شده است و تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی در (سطح $P < 0.05$) را با * و تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل در (سطح $P < 0.05$) با ^o نشان داده شده است.

بحث

در این مطالعه نشان داده شد که تجویز خوراکی توام بربرین هیدروکلراید و ویتامین E در موش‌های صحرایی دیابتی، به مدت شش هفته علاوه بر کاهش قند پلاسما، به طور معنی داری سبب بهبود عملکرد شناختی، یادگیری و حافظه‌ی فضایی می‌شود. در واقع مقایسه‌ی شاخص‌های افزایش تعداد دفعات ورود و نیز تعداد دفعات ایستادن در بازوی جدید و هم چنین کاهش زمان برای انتخاب بازوی جدید در *Y maze*، بین تمامی گروه‌های دیابتی تحت درمان نشان‌دهنده‌ی تاثیر بهتر تجویز توام بربرین هیدروکلراید و ویتامین E در پیشگیری از اختلالات شناختی، یادگیری و حافظه‌ی فضایی ایجاد شده در گروه‌های دیابتی با استرپتوزوتوسین می‌باشد.

بربرین هیدروکلراید آنتی‌اکسیدان مهم و دارای خواص ضد التهابی است (۲۸). این دارو اثری مهاري بر سیکواکسیژناز ۲ داشته پروستاگلاندین E2 را کاهش داده، نقش ترمیمی در سیستم عصبی ایفا می‌کند (۱۹). هم‌چنین برخی از محققین نشان داده‌اند که بربرین هیدروکلراید منجر به افزایش اینترلوکین 1 β و نیتریک اکساید سنتتاز گردیده است (۲۰) و می‌تواند از سلول‌های آندوتلیالی مویرگ‌های آسیب دیده مغزی محافظت کرده و با گشاد کردن مویرگ‌های مغزی جریان خون در مغز را افزایش دهد (۲۱). بربرین با مهار کانال‌های پتاسیمی از آپوپتوزیس نورون‌های CA1 در هیپوکمپ جلوگیری و باعث افزایش سرعت در بقای نورونی می‌شود؛ هم‌چنین α توکوفرول استرس اکسیداتیو و التهاب را از طریق کاهش بیان و آزادسازی سیتوکین‌های پیش التهابی و کاهش میزان مالون‌دی‌آلدهید کاهش داده (۲۲) و به‌عنوان یک ماده‌ی آنتی‌اکسیدان از اکسیداسیون اسید آراشیدونیک و در نهایت از تولید پروستاگلاندین‌ها جلوگیری می‌کند (۲۳). هم‌چنین با تاثیر مستقیم بر فعالیت فاکتور رونویسی NF-KB

از فعالیت آن جلوگیری (۲۴) و از این راه اثر مفیدی در درمان بیماری‌های التهابی متعدد اعمال می‌کند. لذا به نظر می‌رسد برخی از آثار محافظت نورونی بربرین هیدروکلراید و ویتامین E به دلیل خاصیت ضدالتهابی آن است. از سوی دیگر، بربرین هیدروکلراید اثر مهاري بر آنزیم استیل‌کولین‌استراز و منوآمینواکسیداز داشته (۲۵) سطح نوراپی‌نفرین، سروتونین، دوپامین مغز را نیز به ویژه در هیپوکمپ و قشر فرونتال افزایش می‌دهد (۲۶). در دزهای زیاد (بیش از ۱۰۰ تا ۵۰۰ میلی گرم در کیلوگرم) سطح سروتونین، دوپامین و نوراپی‌نفرین را در ساقه مغزی کاهش می‌دهد (۲۷). دھیر و همکارانش نیز نشان دادند که بربرین هیدروکلراید نقش معکوس و آنتاگونیستی برگیرنده‌ی α_2 آدرنرژیک در غشای سلول پس سیناپسی ایفا نموده، سبب افزایش نوروترنسمیترهای آدرنرژیک می‌شود (۲۸). هم‌چنین غلظت خارج سلولی گلوتامات مغز در دیابت افزایش یافته که دارای خاصیتی سمی برای نورون می‌باشد (۴۴) و نشان داده شده که بربرین می‌تواند پیوندهای گیرنده‌ی NMDA گلوتاماتی را در مغز کاهش دهد (۲۹). ویتامین E، با کاهش گلوتامات و متابولیت‌های آن می‌تواند آثار درمانی و محافظتی خود بر این بخش اعمال کند. ویتامین E فعالیت استیل‌کولین‌استراز را در مغز موش‌های دیابتی را نیز افزایش داده و قادر است بعضی از شاخص‌های شناختی ارزیابی شده با *Y maze* را بهبود بخشد (۳۰). بنابر این نقش بربرین هیدروکلراید و ویتامین E در پیشگیری از آثار مخرب ناشی از دیابت را می‌توان به‌تعدیل عملکرد نوروترانسمیترها نیز نسبت داد. 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 (۳۱). لذا می‌توان بخشی از آثار بربرین هیدروکلراید در پیشگیری از اختلالات مرتبط با شناخت فضایی و شناسایی اشیا را به نقش این دارو در کاهش

بین پایین بودن ویتامین E و افزایش ابتلا به دیابت نوع یک و دو را تایید کردند (۳۵، ۳۴) کوهاد نشان داد که مکمل توکوترینول طی مدت ده هفته به حفظ وزن بدن و پایین آوردن غلظت گلوکز پلاسما در موش‌های دیابتی شده با STZ کمک می‌کند (۳۰). هم‌چنین نشان داده شده است که ویتامین E می‌تواند عملکرد پانکراس را طی دیابت بهبود بخشد، عملکرد سلول‌های β جزایر لانگرهانس را افزایش می‌دهد (۱۳).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست آمده در این مطالعه، به نظر می‌رسد که تجویز توام بربرین هیدروکلراید و ویتامین E با کاهش قند خون، سبب بهبود اختلالات شناختی، یادگیری و حافظه در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین می‌شود. امید آن می‌رود که با انجام کارآزمایی بالینی و تایید آثار این دو دارو در نمونه‌های انسانی بتوان با تجویز هم زمان این دو دارو سبب بهبود بیشتر آسیب‌های شناختی و اختلالات مرتبط با حافظه و یادگیری در بیماران دیابتی شد.

قند در نمونه‌های دیابتی نسبت داد. علاوه بر مکانیسم‌های احتمالی فوق‌الذکر، مطالعات اخیر بر نقش مخرب استرس اکسیراتیو در بیماران دیابتی و معرفی آنتی‌اکسیدان‌ها به‌عنوان یک روش درمانی تاکید می‌نماید (۳۲). شایان ذکر است بربرین هیدروکلراید اثری مهاری بر لیپواکسیژناز (۱۰) و گزانتین‌اکسیداز (۱۱) اعمال می‌نماید. علاوه بر آن، ویتامین E از فعالیت لیپواکسیژناز و سیکلوکسیژناز COX_2 جلوگیری می‌کند (۴). این آنزیم‌ها، منابع مهم ایجادکننده ROS بوده، این توانایی بیانگر خاصیت آنتی‌اکسیدان بربرین هیدروکلراید و ویتامین E می‌باشد که بخش عمده‌ای از آثار محافظت نورونی این داروها 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 به‌ویژه سلول‌های β در مقابل استرس اکسیداتیو در رت‌های دیابتی نیز جلوگیری نماید (۹). مانینگ نیز دریافت که مکمل ویتامین E غلظت گلوکز، سطح انسولین و غلظت پروکسید در پلاسمای نمونه‌های شرکت کننده را در یک دوره زمانی سه ماهه کاهش می‌دهد (۳۳). سالونن و نکت رابطه‌ی موجود

References

- 1- Pop-Busui R, Sima A, Stevens M, Diabetic neuropathy and oxidative stress. *Diabetes Metab Res Rev*. 2006; 22: 257-273.
- 2- Galer BS, Ganas A, Jensen MP. Painful diabetic polyneuropathy: epidemiology, pain description, and quality of life. *Diabetes Res Clin Pract*. 2000; 47: 123-28.
- 3- Yoshikawa T, Yasuda M, Ueda S, et al. Vitamin E in gastric mucosal injury induced by ischemia-reperfusion. *Am J Clin Nutr*. 1991; 53: 2105-45.

- 4- Devaraj S; Jialal I. Alpha-tocopherol decreases tumor necrosis factor- α mRNA and protein from activated human monocytes by inhibition of 5-lipoxygenase. *Free Radic Biol Med*. 2005; 38: 1212-1220.
- 5- 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: 397-402.

- 6- Scarano WR, Messias AG, Oliva SU, Klinefelter GR, Kempinas WG: Sexual behavior, sperm quantity and quality after short-term streptozotocin-induced hyperglycaemia in rats. *Int J Androl*. 2006; 29: 482-488.
- 7- Vuddanda PR, Chakraborty S, Singh S. Berberine: a potential phytochemical with multispectrum therapeutic activities. *Drugs*. 2010; 10: 1297- 1307.
- 8- Kong WJ, Zhang H, Song DQ, et al. Berberine reduce insulin resistance through protein kinase C-dependent up-regulation of insulin receptor expression. *Metabolism*. 2009; 58: 109-19.
- 9- Zou 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: 262-268.
- 10- 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: 457-462.
- 11- Hua-Dong Wang, Da-Xiang Lu, Ren-Bin Qi, Therapeutic strategies targeting the LPS signaling and cytokines. *Pathophysiol*. 2009; 16: 291-296.
- 12- Tsourelis Nikita E, Hercogova J, Lotti T, Menchini G. Evaluation of dietary intake of vitamin E in the treatment of atopic dermatitis: a study of the clinical course and evaluation of the immunoglobulin E serum levels. *Int J Dermatol*. 2002; 41(3): 146-50.
- 13- Sena CM, Nunes E, Gomes A, Santos MS, Proenca T, Martins MI, Seica RM. Supplementation of coenzyme Q10 and alpha-tocopherol lowers glycated hemoglobin level and lipid peroxidation in pancreas of diabetic rats. *Nutr Res*. 2008; 28: 113-121.
- 14- Al Shamsi M, Amin A, Adeghate E. Beneficial effect of vitamin E on the metabolic parameters of diabetic rats. *Mol Cell Biochem*. 2004; 261: 35-42.
- 15- Paolisso G, D'Amore A, Giugliano D, Ceriello A, Varnicchio M, D'Onofrio F. Pharmacological doses of vitamin E improve insulin action in healthy subjects and non- insulin-dependent diabetic patients. *Am J Clin Nutr*. 1993; 57: 650-6.
- 16- Khanduja KL, Avti PK, Kumar S, Pathania V, Pathak CM. Inhibitory effect of vitamin E on proinflammatory cytokines and endotoxin-induced nitric oxide release in alveolar macrophages. *Life Sci*. 2005; 76(23): 2669-80.
- 17- Azzi A, Ricciarelli R, Zingg JM. Non-antioxidant molecular functions of alpha-tocopherol (vitamin E). *FEBS Lett*. 2002; 519: 8-10.
- 18- Li RK, Cowan DB, Mickle DA, Weisel RD, Burton GW. Effect of vitamin E on human glutathione peroxidase (GSH-PX1) expression in cardiomyocytes. *Free Radic Biol Med*. 1996; 21: 419-426.
- 19- Yoo KY, Hwang IK, Kim JD, Kang IJ, Park J, Yi JS, Kim JK, Bae YS, Won MH. Antiinflammatory effect of the ethanol extract of *Berberis koreana* in a gerbil model of cerebral

- ischemia/ reperfusion. *Phytother Res.* 2008; 22: 1527-32.
- 20- 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; 7: 78.
- 21- Yu Y, Liu L, X Wang, et al. Modulation of glucagon-like peptide-1 release by berberine: in vivo and in vitro studies. *Bioche Pharmacol.* 2010; 79(7): 1000-6.
- 22- Jialal I, Venugopal SK. Oxidative stresses, inflammation, and diabetic vasculopathies: the role of alpha tocopherol therapy. *Free Radic Res.* 2002; 36(12): 1331-6.
- 23- Ziaei S. A randomized placebo controlled trial to determine the effect of vitamin E in treatment of primary dysmenorrhea. *BJOG.* 2001; 108(11): 1181-30.
- 24- Calfee Mason KG, Lee EY, Spear BT, Glauert HP. Role of the p50 subunit of NF-kappa β in vitamin E-induced changes in mice treated with the peroxisome proliferator, ciprofibrate. *Food Chem Toxicol.* 2008; 46: 2062-2073.
- 25- 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: 147-153.
- 26- 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: 933-8.
- 27- 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: 2451-62.
- 28- 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. *Pharmacol.* 2007; 80: 239-43.
- 29- Yoo JH, Yang EM. Inhibitory effects of berberine against morphine-induced locomotor sensitization and analgesic tolerance in mice. *Neuroscience.* 2006; 142(4): 953-61.
- 30- Vatassery GT. Vitamin E and other endogenous antioxidants in the central nervous system. *Geriatrics.* 1998; 53: 525-527.
- 31- Biessels GJ, Kerssen A, de Haan EH, Kappelle LJ. Cognitive dysfunction and diabetes: implications for primary care. *Prim Care Diabetes.* 2007; 1(4): 187-93.
- 32- Tuma I. Diabetes mellitus and cognitive impairments. *Vnitr Lek.* 2007; 53(5): 486-8.
- 33- Manning PJ, Sutherland WH, Walker RJ, et al. Effect of high-dose vitamin on insulin resistance and associated parameters in overweight subjects. *Diabetes Care.* 2004; 27: 2166-1.
- 34- Salonen JT, Nyyssönen K, Tuomainen TP, et al. Increased risk of non-insulin dependent diabetes mellitus at low plasma vitamin E concentrations: a four year follow up

study in men. *BMJ*. 1995; 311: 1124-7.
35- Knekt P, Reunanen A, Marniemi J, Leino A, Aromaa A. Low vitamin E status is a potential

risk factor for insulin-dependent diabetes mellitus. *J Intern Med*. 1999; 245: 99-102.

Effect of Berberine Hydrochloride and Vitamin E on Learning and Memory in Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats

Kalalian Moghaddam H¹, Vaezi Gh², Mesripour Alavijeh M², Salami M², Ghanbari F²

¹Dept. of Physiology, Faculty of Medicine, Shahrood University of Medical Sciences, Shahrood, Iran.

²Dept. of Physiology, Islamic Azad University, Damghan, Iran.

Corresponding Author: Salami M, Dept. of Physiology, Islamic Azad University, Damghan, Iran.

E-mail: Shahrood_alavi@yahoo.com

Received: 20 Jun 2013 **Accepted:** 26 Jul 2014

Background and Objective: Increasing evidence has shown that diabetes induces cognitive dysfunction and impairs learning and memory. Berberine is an isoquinoline alkaloid and vitamin E is a fat-soluble antioxidant with multiple pharmacological effects on diabetes. Thus, we investigated the effect of Berberine hydrochloride and vitamin E on diabetes-induced cognitive dysfunction in rats.

Materials and Methods: 48 male Wistar rats were randomly selected and allocated in 6 control groups: control treated with vitamin E (30mg/kg), diabetic and Berberine-treated diabetic group (100mg/kg), vitamin E-treated diabetic group (30mg/kg) and a diabetic group treated with both vitamin E and Berberine. Diabetes was induced by STZ administration at dose of 55mg/kg through Intraperitoneal injection route. Berberine hydrochloride and vitamin E were administered per os, respectively at doses of 100 and 30 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, 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.

Results: Diabetic group treated with both drugs demonstrated significant behavioral differences as compared to diabetic, vitamin E-treated diabetic (30mg/kg), and Berberine -treated diabetic (100mg/kg) groups. In the meantime, cognitive test value demonstrated an increase in this group.

Conclusion: Berberine hydrochloride and vitamin E administration for 6 weeks improve cognitive dysfunction in streptozotocin -induced diabetes in rats.

Keywords: *Diabetes mellitus; Berberine hydrochloride; Vitamin E; Spatial recognition; Objective recognition*