

## Effect of Berberine Hydrochloride on memory and learning in Streptozotocin-induced diabetic rats

H. Kalalian Moghaddam\*    T. Baluchnejadmojarad\*\*    M. Roghani\*\*\*    M. Khaksari\*\*\*\*  
M. Mesripour Alavijeh\*\*\*\*\*    N. Mokhberian\*\*\*\*\*

\*Professor of Physiology, School of Medicine, Shahrood University of Medical Sciences, Shahrood, Iran

\*\*Professor of Physiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

\*\*\*Professor of Physiology, School of Medicine, Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran

\*\*\*\*Assistant Professor of Physiology, School of Medicine, Shahrood University of Medical Sciences, Shahrood, Iran

\*\*\*\*\*Ph.D. Student of Physiology, Islamic Azad University, Damghan, Iran

\*\*\*\*\*M.Sc. in Genetics, School of Medicine, Shahrood University of Medical Sciences, Shahrood, Iran

### \*Abstract

**Background:** Chronic diabetes mellitus affects the hippocampus via various pathways including augmented oxidative stress, and leads to learning and memory impairment. It is indicated that berberine has anti-diabetic, antioxidant and neuroprotective effects.

**Objective:** The aim of this study was to determine the effects of berberine hydrochloride on short-term spatial memory and passive avoidance learning and memory in streptozotocin-induced diabetic rats.

**Methods:** In this experimental study, 40 male wistar rats were randomly divided into five groups: control, berberine-treated control (100 mg/kg), diabetic and berberine-treated diabetic (50, 100 mg/kg). Diabetes was induced by intraperitoneal injection of 60 mg/kg streptozotocin. One week after streptozotocin injection, rats were treated with 50 and 100 mg/kg/day berberine orally, for 7 weeks. 1,3,5,7 weeks after streptozotocin injection, blood samples were taken from the tail vein to measure blood glucose levels. In order to investigate the effects of berberine on passive avoidance learning and memory, Initial Latency (IL) and Step-Through Latency (STL) were measured by shuttle box. Short-term spatial memory was assessed by percentage of alternation behavior in the Y maze. Data were analyzed by ANOVA, Kruskal-Wallis test and Mann Whitney U test.

**Findings:** Alternation percentage in the diabetic group was significantly lower than the control group, and was increased significantly in the berberine-treated (100 mg/kg) diabetic group compared to the diabetic group. STL was significantly decreased in the diabetic group compared to the control group and was significantly increased in the berberine-treated (100 mg/kg) diabetic group compared to the diabetic group. The STL difference between the control group and the berberine-treated control group was not statistically significant.

**Conclusion:** With regards to the results, 7 weeks treatment with berberine improves short-term spatial memory and passive avoidance learning and memory in streptozotocin-induced diabetic rats.

**Keywords:** Berberine, Diabetes Mellitus, Behavior, Memory

**Corresponding Address:** Hamid Kalalian Moghaddam, Department of Physiology, School of Medicine, Shahrood University of Medical Sciences, Shahrood, Iran

**Email:** h.kalalian@gmail.com

**Tel:** +98-273-3395054

**Received:** 20 Jul 2013

**Accepted:** 17 Nov 2013

## اثر بربرین هیدروکلراید بر حافظه و یادگیری موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

دکتر حمید کالالیان مقدم\*      دکتر توراندخت بلوچ نژاد مجرد\*\*      دکتر مهرداد روغنی\*\*\*      دکتر مهدی خاکساری\*\*\*\*  
 مهناز مصری پور علویجه\*\*\*\*\*      ندا مخبریان\*\*\*\*\*

\* استاد فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شاهرود  
 \*\* استاد فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران  
 \*\*\* استاد فیزیولوژی مرکز تحقیقات فیزیولوژی اعصاب دانشگاه شاهد تهران  
 \*\*\*\* استادیار فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شاهرود  
 \*\*\*\*\* دانشجوی دکتری فیزیولوژی دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان  
 \*\*\*\*\* کارشناس ارشد ژنتیک دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شاهرود

آدرس نویسنده مسؤول: شاهرود، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی شاهرود، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی، تلفن ۰۲۷۳-۳۳۹۵۰۵۴

Email: h.kalalian@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۹۲/۸/۲۶

تاریخ دریافت: ۹۲/۴/۲۹

### \* چکیده

**زمینه:** دیابت ملیتوس مزمن از راه‌های مختلف از جمله تشدید روند تنش اکسیداتیو بر هیپوکامپ تأثیر می‌گذارد و به اختلال در یادگیری و حافظه منجر می‌شود. شواهد موجود مبنی بر آثار ضد دیابتی، آنتی‌اکسیدانی و حفاظت نورونی بربرین است.

**هدف:** مطالعه به منظور تعیین اثر بربرین بر حافظه فضایی کوتاه مدت، یادگیری و حافظه اجتنابی غیرفعال موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به طور تصادفی انتخاب و به پنج گروه شاهد، شاهد بیمار شده با بربرین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، دیابتی و دو گروه دیابتی تیمار شده با بربرین ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم تقسیم شدند. دیابت با تزریق استرپتوزوتوسین با دوز ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، به صورت درون صفاقی القاء شد. یک هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین، تیمار با بربرین با دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز به مدت هفت هفته به صورت خوراکی انجام شد. قند خون در هفته‌های ۱، ۳، ۵ و ۷ پس از تزریق استرپتوزوتوسین با خون‌گیری از سیاهرگ دمی اندازه‌گیری شد. اثر بربرین بر یادگیری و حافظه اجتنابی غیرفعال با دستگاه شاتل باکس، مدت زمان تأخیر اولیه (IL) و تأخیر در حین عبور (STL) بررسی و حافظه فضایی کوتاه مدت از طریق درصد رفتار تناوب در ماز Y ارزیابی شد. داده‌ها با آزمون‌های آماری آنوا، کروسکال والیس و من ویتنی تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** درصد تناوب در گروه دیابتی به طور معنی‌داری از گروه شاهد کم‌تر بود و در گروه دیابتی تحت درمان با بربرین ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه دیابتی به طور معنی‌داری افزایش یافت. STL در گروه دیابتی، در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری کاهش و در گروه دیابتی تحت درمان با بربرین ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به طور معنی‌داری نسبت به گروه دیابتی افزایش یافت. اگرچه این شاخص تفاوت معنی‌داری بین دو گروه شاهد و شاهد تحت تیمار با بربرین نداشت.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به یافته‌ها، درمان با بربرین به مدت ۷ هفته، حافظه فضایی کوتاه مدت، یادگیری و حافظه اجتنابی غیرفعال را در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین بهبود بخشید.

**کلیدواژه‌ها:** بربرین، دیابت ملیتوس، رفتار، حافظه

### \* مقدمه:

متابولیسم پروتئین، چربی و کربوهیدرات‌هاست که بر اثر کمبود یا کاهش نسبی انسولین یا کاهش حساسیت بافت‌ها نسبت به انسولین ایجاد می‌شود.<sup>(۱)</sup> دیابت عوارض متابولیکی حادی نظیر کتواسیدوز، اغمای هیپراسمولار و یا عوارض مزمن نامطلوبی ایجاد می‌کند نظیر: نوروپاتی، نوروپاتی، رتینوپاتی، ضایعه‌های پوستی و نیز اختلال‌های متعددی در سیستم قلب و گردش خون.<sup>(۲-۵)</sup>

بیماری دیابت، مجموعه‌ای از اختلال‌های پیچیده در متابولیسم پروتئین، چربی و کربوهیدرات‌هاست که بر اثر کمبود یا کاهش نسبی انسولین یا کاهش حساسیت بافت‌ها نسبت به انسولین ایجاد می‌شود.<sup>(۱)</sup> دیابت عوارض

اختلال‌های اکسیداتیو ناشی از القای دیابت، به نظر می‌رسد دوز فارماکولوژیک این دارو به طور درازمدت می‌تواند تأثیر نامطلوب دیابت را در عملکرد شناختی از جمله حافظه و یادگیری بهبود بخشد. لذا مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر بربرین بر حافظه فضایی کوتاه مدت، یادگیری و حافظه اجتنابی غیرفعال موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین انجام شد.

### \* مواد و روش‌ها:

جهت انجام این مطالعه تجربی که در سال ۱۳۹۱ در دانشگاه علوم پزشکی شاهرود انجام شد، از ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (انستیتو پاستور، تهران) با وزن ۲۲۵ تا ۲۸۵ گرم استفاده شد. موش‌ها به منظور انطباق با محیط، از یک هفته قبل از شروع آزمایش، در محیط آزمایشگاه با دمای  $22 \pm 2$  درجه سلسیوس و رطوبت ۳۰ تا ۴۰ درصد و چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته قرار گرفتند و به طور آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. قابل ذکر است که نکات اخلاقی در رابطه با کار با حیوان‌های آزمایشگاهی در تمام مدت کار رعایت شد. موش‌ها به طور تصادفی به پنج گروه ۸ تایی: شاهد، شاهد تیمار شده با بربرین هیدروکلراید (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، دیابتی و دو گروه دیابتی تیمار شده با بربرین هیدروکلراید ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم دسته‌بندی شدند. داروهای به کار رفته در این آزمایش (بربرین هیدروکلراید و استرپتوزوتوسین) از شرکت سیگما خریداری شدند.

القای دیابت با تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین (۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم حل شده در بافر سدیم سیترات ۰/۰۵ M و  $\text{pH} = 4/4$ ) انجام شد. به منظور کاهش مرگ و میر ناشی از شوک قند خون، پس از تزریق استرپتوزوتوسین به مدت ۲۴ ساعت از محلول گلوکز ۵ درصد به جای آب استفاده شد. ۷۲ ساعت بعد از تزریق استرپتوزوتوسین، برای اطمینان از دیابتی شدن موش‌ها، سنجش قند خون از طریق خون‌گیری از سیاهرگ دمی

دیابت ملیتوس به شدت با اختلال‌های دژنراتیو و عملکرد سیستم عصبی مرکزی همراه است.<sup>(۴)</sup> شواهد نشان داده است که پس از القای دیابت، به تدریج اختلال در عملکرد شناختی و شکل‌پذیری سیناپسی در ناحیه شکنج دندان‌دار هیپوکامپ ایجاد می‌شود و با مکانیسم‌های متعددی، آسیب‌های مغزی ایجاد می‌کند.<sup>(۷-۱۳)</sup>

نتایج مشابه نیز نشان داده‌اند که القای دیابت با استرپتوزوتوسین، به تغییر ساختار پایانه‌های سیناپسی در ناحیه هیپوکامپ منجر می‌شود از جمله: بازآرایی وزیکول‌های سیناپسی، تخلیه وزیکول‌های سیناپسی و کاهش تعداد دندریت‌نورون‌های رأسی ناحیه هیپوکامپ.<sup>(۱۴-۱۷)</sup> با این حال تاکنون هیچ درمان مشخصی برای کنترل یا پیشگیری از نوروپاتی دیابتی و اختلال‌های شناختی متعاقب آن در دست نیست.<sup>(۱۸)</sup>

بربرین آلکالوئیدی ایزوکوئینولین است که آثار ضد اضطرابی، ضد دردی، ضد التهابی، ضد افسردگی و ضد فراموشی آن گزارش شده است.<sup>(۱۹-۲۱)</sup> در این راستا طی مطالعه‌های بالینی و پیش بالینی در دیابت، آثار مفیدی از بربرین مشاهده شده است.<sup>(۲۲-۲۷)</sup> به نظر می‌رسد این دارو موجب افزایش بیان انسولین، بازسازی سلول‌های  $\beta$  و افزایش توان آنتی‌کسیدان سلول‌ها می‌شود.<sup>(۲۸-۳۱)</sup> همچنین گزارش شده است که بربرین با مهار آنزیم استیل‌کولین استراز نقش مهمی در درمان آلزایمر و فراموشی دارد که با افزایش فعالیت‌های کولینرژیک سیستم عصبی مرکزی مرتبط است. برخی گزارش‌ها نیز نشان داده‌اند که بربرین نقش مفیدی در سلامت و عملکرد سیستم عصبی و محافظت از نورون‌های مغزی در برابر عوامل تهاجمی ایفا می‌کند.<sup>(۳۲-۳۵)</sup>

مطالعه‌های اخیر نشان داده‌اند که بربرین با افزایش بیوسنتز و انتشار GLP-1 (Glucagon-like peptide-1) می‌تواند نقش مهمی در درمان نوروپاتی‌های ناشی از دیابت ایفا کند.<sup>(۳۶)</sup> با توجه به شواهد متعدد تأثیر بربرین هیدروکلراید در کاهش عوارض هیپرگلیسمی و تنظیم

انجام و به گروه‌های شاهد، معادل حجم دارو، نرمال سالین تزریق شد.

یک هفته پس از تزریق استریتوزوتوسین، نمونه خون پس از یک شب ناشتا گرفته و غلظت گلوکز سرم با روش اکسیداسیون گلوکز (زیست شیمی، تهران) اندازه‌گیری شد. فقط حیوان‌های با میزان قند سرمی ناشتا بالاتر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر، به عنوان دیابتی برای آزمایش انتخاب شدند. به دو تا از گروه‌های ۸ تایی موش‌های دیابتی، بربرین هیدروکلرید به صورت گاوژ با دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز برای یک دوره ۷ هفته‌ای تجویز شد. وزن و قند گروه‌ها در هفته‌های ۱، ۳، ۵ و ۷ پس از تزریق استریتوزوتوسین اندازه‌گیری شد. پس از پایان ۸ هفته دریافت دارو یا تحمل شرایط دیابت بدون دریافت دارو، حافظه فضایی نمونه‌ها با استفاده از ماز Y سنجیده شد، جنس ماز Y از پلکسی گلاس سیاه رنگ بود. طول و عرض و ارتفاع هر بازوی ماز به ترتیب ۴۰، ۱۵ و ۳۰ سانتی‌متر بود. هر سه بازو از طریق یک محوطه مرکزی مثلثی شکل با اضلاع ۱۵ سانتی‌متر، به هم متصل شده بودند. هر موش در انتهای یک بازو قرار داده شد و در هر جلسه به آن اجازه حرکت آزادانه به مدت ۸ دقیقه در طول بازوهای ماز Y داده شد. زمانی ورود به بازو کامل محسوب می‌شد که انتهای دم حیوان به طور کامل در بازو قرار می‌گرفت. در پایان بازو‌هایی که حیوان به آن‌ها وارد شده بود، بدون احتساب بازوی شروع در توالی‌های سه تایی بدون تکرار دسته‌بندی شدند. تعداد تناوب واقعی ورود به سه بازوی متوالی تحت عنوان مجموعه سه‌گانه و تعداد تناوب حداکثر یا احتمالی از رابطه (۲- تعداد کل بازوهای ورودی) و درصد تناوب که شاخصی از حافظه کوتاه مدت فضایی از نوع بازشناختی است از رابطه نسبت تناوب واقعی به نسبت تناوب حداکثر محاسبه شد.

برای بررسی رفتار اجتنابی غیرفعال از دستگاه ساتل باکس به ابعاد ۲۰×۴۰×۲۰ سانتی‌متر، ساخت ایران استفاده گردید که از اجزای زیر تشکیل شده بود: اتاقک

روشن که توسط یک لامپ ۶۰ واتی روشن می‌شد. اتاقک تاریک که دیواره‌های داخلی آن سیاه رنگ بوده و فضای این دو اتاقک با یک در کشویی باز و بسته می‌شد. میله‌های شوک‌دهنده که کف اتاقک تاریک را پوشانده بودند. همچنین از یک الکتروشوکر جهت ایجاد شوک الکتریکی استفاده می‌شد که جریان الکتریکی با شدت ۰/۵ تا ۱ میلی‌آمپر را به مدت ۲ ثانیه از طریق میله‌های شوک‌دهنده به بدن حیوان منتقل می‌کرد و نیز زمان سنج برای اندازه‌گیری زمان. در این تحقیق از روش Single Trial Retention برای بررسی رفتار اجتنابی غیرفعال استفاده شد که شامل مراحل زیر بود:<sup>(۳۷)</sup>

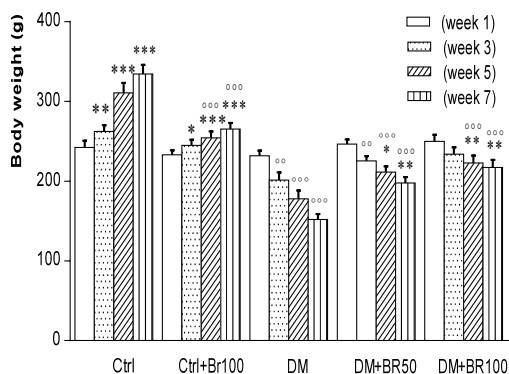
مرحله سازش: این مرحله قبل از شروع آزمایش و طی دو جلسه ۱۵ دقیقه‌ای، در دو روز انجام می‌شد. در این مرحله، حیوان هر روز به مدت ۱۵ دقیقه در شرایط محیطی تاریک و بی‌صدا در حالی که در کشویی بین دو اتاقک باز بود، در دستگاه قرار داده می‌شد. در پایان این مرحله موش‌ها به تاریکی عادت کرده و قادر به ورود به مرحله اصلی آزمایش بودند.

مرحله سازش ویژه: ۲۴ ساعت پس از پایان یافتن مرحله قبل و پیش از شروع آزمایش، هر حیوان به تنهایی در اتاقک روشن قرار داده می‌شد. در این مرحله محیط تاریک و بدون صدا بود و در کشویی بین دو اتاقک نیز بسته بود. این مرحله ۵ دقیقه طول می‌کشید و طی آن حیوان محیط را به خوبی کاوش می‌کرد.

یادگیری: با پایان یافتن مرحله قبل، چراغ اتاقک روشن شده و همزمان با باز شدن در کشویی بین دو اتاقک، زمان سنج روشن می‌شد. با توجه به این که موش‌ها طی مراحل قبلی به تاریکی محیط عادت کرده بودند، به سمت اتاقک تاریک حرکت می‌کردند. مدت زمانی که طول می‌کشید تا آن‌ها پس از روشن شدن چراغ، اتاقک روشن را ترک و به اتاقک تاریک وارد شوند، ثبت شد. با ورود حیوان به اتاقک تاریک، درب کشویی بین دو اتاقک بسته و با فشردن کلید دستگاه شوک‌دهنده، تک شوکی به حیوان القاء می‌شد. حیوان ۳ تا ۵ دقیقه پس از القای

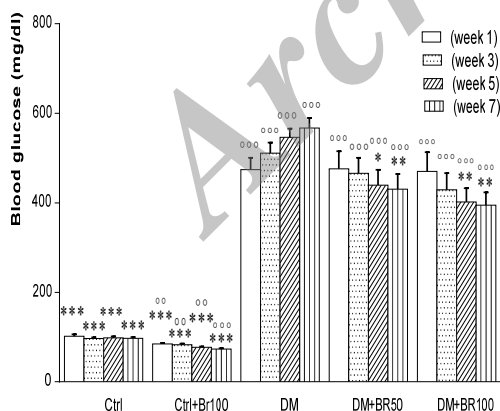
گروه شاهد دیابتی ایجاد کرد ( $P < 0.01$ ). علاوه بر این، قند خون موش‌های گروه شاهد تحت درمان با بربرین نسبت به گروه شاهد کاهش یافت (نمودار شماره ۲).

#### نمودار ۱- مقایسه وزن بدن گروه‌های مورد مطالعه در هفته اول، سوم، پنجم و هفتم



\*  $P < 0.05$  تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی  
 \*\*  $P < 0.01$  تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی  
 \*\*\*  $P < 0.001$  تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی  
 00  $P < 0.01$  تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد  
 000  $P < 0.001$  تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد

#### نمودار ۲- مقایسه قند خون گروه‌های مورد مطالعه در هفته اول، سوم، پنجم و هفتم



\*  $P < 0.05$  تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی  
 \*\*  $P < 0.01$  تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی  
 \*\*\*  $P < 0.001$  تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی  
 00  $P < 0.01$  تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد  
 000  $P < 0.001$  تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد

شوک (زمانی که آرام شده بود) به قفس خود منتقل می‌شد.

مرحله سنجش یاد سپاری: ۲۴ ساعت پس از پایان یافتن مرحله قبل، هر موش به تنهایی وارد دستگاه می‌شد و در اتاقک روشن قرار می‌گرفت و مرحله فوق تکرار می‌شد. به عبارت دیگر، پس از روشن کردن چراغ اتاقک روشن و برداشتن درب کشویی بین دو اتاقک، مدت زمان بین روشن شدن چراغ تا ورود حیوان به اتاقک تاریک با زمان سنج ثبت می‌شد.

مدت زمانی تأخیر ورود: با ورود حیوان به اتاقک تاریک این مرحله به پایان می‌رسید و حیوان به قفس خود برگردانده می‌شد. مدت زمانی تأخیر ورود حیوان از اتاقک روشن به اتاقک تاریک بود که به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شد.

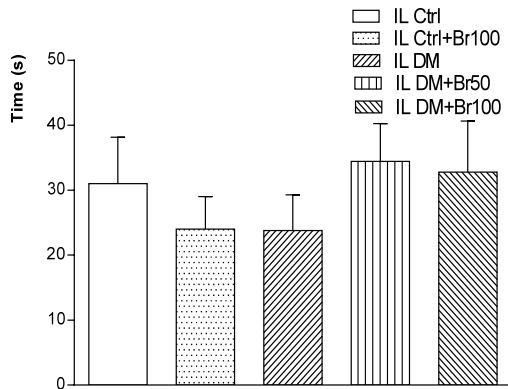
داده‌ها با نرم‌افزار آماری پرسم و آزمون‌های آماری کروسکال والیس و من ویتنی تجزیه شدند. برای مقایسه بین گروهی نتایج وزن و میزان گلوکز سرم حیوان‌ها از آزمون آنوای یک طرفه و جهت مقایسه نتایج هر گروه در زمان‌های مختلف از تحلیل واریانس با اندازه‌گیری مکرر آنوا استفاده شد. در تمامی بررسی‌ها  $P < 0.05$  به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

#### \* یافته‌ها:

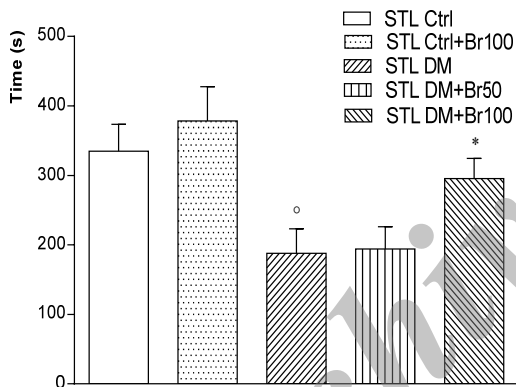
وزن گروه شاهد دیابتی در سومین هفته به میزان قابل توجهی نسبت به گروه شاهد کاهش یافت ( $P < 0.001$ ). همچنین در هفته پنجم بعد از تزریق استرپتوزوتوسین، وزن بدن گروه‌های دیابتی تحت درمان با بربرین (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به میزان قابل توجهی نسبت به گروه دیابتی افزایش یافت ( $P < 0.05$ ) و ( $P < 0.001$ ) (نمودار شماره ۱).

میزان قند خون گروه‌های دیابتی نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت ( $P < 0.001$ ). درمان مزمن با بربرین (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) کاهش معنی‌داری در قند خون این گروه‌ها در مقایسه با

#### نمودار ۴- مقایسه II در گروه‌های مورد مطالعه با آزمون اجتنابی غیرفعال



#### نمودار ۵- مقایسه STL در گروه‌های مورد مطالعه با آزمون اجتنابی غیرفعال



\*  $P < 0.05$  تفاوت معنی دار با گروه دیابتی  
 \*  $P < 0.05$  0 تفاوت معنی دار با گروه شاهد

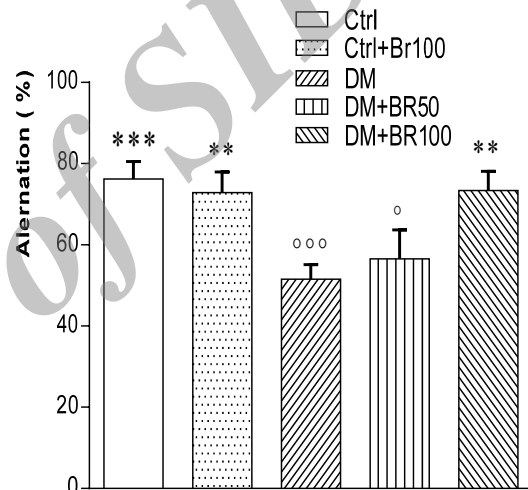
#### \* بحث و نتیجه گیری:

مطالعه حاضر نشان داد که درمان دراز مدت بربرین هیدروکلراید اختلال‌های حافظه فضایی کوتاه مدت، یادگیری و حافظه اجتنابی غیرفعال ناشی از دیابت را در موش‌های دیابتی بهبود می‌بخشد.

بربرین به عنوان یک داروی خوراکی سالیان متمادی در چین استفاده شده و ایمنی و اثربخشی آن مورد پذیرش قرار گرفته است. از آن‌جا که دوز ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز و نحوه تجویز گاواژ به مصرف بالینی دارو

درصد تناوب در موش‌های دیابتی به طور معنی‌داری از گروه شاهد کمتر بود ( $P < 0.01$ ) و در گروه دیابتی تحت درمان با بربرین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه دیابتی به طور معنی‌داری افزایش یافت ( $P < 0.05$ ). تجویز بربرین به گروه شاهد تحت درمان با بربرین تفاوت معنی‌داری را در درصد تناوب در مقایسه با گروه شاهد ایجاد نکرد (نمودار شماره ۳).

#### نمودار ۳- مقایسه درصد تناوب در گروه‌های مختلف با آزمون ماز Y



\*\*  $P < 0.01$  تفاوت معنی دار با گروه دیابتی  
 \*\*\*  $P < 0.001$  تفاوت معنی دار با گروه دیابتی  
 0  $P < 0.05$  تفاوت معنی دار با گروه شاهد  
 000  $P < 0.001$  تفاوت معنی دار با گروه شاهد

در ارزیابی رفتار اجتنابی غیرفعال، تفاوت معنی‌داری از نظر زمان تأخیر اولیه (IL) میان گروه‌ها مشاهده نشد. ولی میانگین سنجش زمان تأخیر در حین عبور (STL) گروه دیابتی در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری کاهش و در گروه دیابتی تحت درمان با بربرین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به طور معنی‌داری نسبت به گروه دیابتی افزایش یافت. شایان ذکر است که این شاخص‌ها در گروه شاهد تحت درمان با بربرین نسبت به گروه شاهد، تفاوت معنی‌داری نشان نداد (نمودارهای شماره ۴ و ۵).

دارد؛ هر چند مدت بررسی آن‌ها کم‌تر از بررسی حاضر بوده است. به علاوه، آن‌ها کاهش توانایی حیوانات دیابتی را در ارتباط با تثبیت و به یادآوری اطلاعات انبار شده پس از یک ماه گزارش نموده‌اند که همین نتیجه در بررسی حاضر نیز به دست آمد.<sup>(۴۶)</sup> براساس شواهد موجود، تغییرات حاصله در این توانایی‌ها را می‌توان به تغییرات پلاستیسیته سیناپسی در ناحیه هیپوکامپ و در نتیجه ایجاد اختلال در روند تقویت درازمدت نسبت داد. شایان ذکر است هر چند این تغییرات بیش‌تر در تثبیت اطلاعات دخالت دارند ولی براساس شواهد تحقیقاتی جدید می‌توانند به میزان کم‌تری در فراگیری مهارت جدید و پیچیده نیز دخالت داشته باشند.<sup>(۴۷،۴۳)</sup>

از سوی دیگر در خصوص حافظه و یادآوری اطلاعات در مطالعه حاضر، با سنجش زمان تأخیر در حین عبور (STL) مشخص شد که میانگین STL نمونه‌ها در گروه دیابتی در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری کاهش و در گروه دیابتی تحت درمان با بربرین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نیز به طور معنی‌داری نسبت به گروه دیابتی افزایش یافت. به عبارت دیگر، این دو ارزیابی نشان داد که تحمل ۸ هفته‌ای دیابت نوع یک، کسب اطلاعات و مهارت‌های جدید در گروه دیابتی را تحت تأثیر قرار ندهد، ولی عملکرد موش‌ها را از نظر حافظه‌کاری و به خاطر آوردن اطلاعات کاهش داده است. شایان ذکر است که هیچ یک از شاخص‌های حافظه‌کاری با ماز Y و ارزیابی رفتار اجتنابی غیرفعال در گروه شاهد تحت تیمار با بربرین نسبت به گروه شاهد، تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. لذا براساس نتایج ذکر شده و نتایج مشابه به دست آمده،<sup>(۴۵،۴۴)</sup> به نظر می‌رسد که بربرین در افزایش حافظه، تثبیت و به خاطر آوردن اطلاعات در افراد عادی نقشی ایفا نمی‌کند، اما از فعالیت مکانیسم‌های مخرب دیابت که به بروز نوروپاتی، کاهش انعطاف‌پذیری سیناپسی و اختلال‌های شناختی منجر می‌شوند، جلوگیری می‌کند.

اگرچه تعدادی از تحقیق‌های بالینی و پیش‌بالینی آثار مفید بربرین را در کاهش عوارض ناشی از دیابت نشان

نزدیک‌تر بوده و نسبت به تزریق سیاهرگی یا درون صفاقی غیرتهاجمی‌تر است برای مطالعه روی حافظه فضایی کوتاه مدت، یادگیری و حافظه اجتنابی غیرفعال، در نظر گرفته شد.<sup>(۳۵،۳۱،۱۹)</sup>

در این مطالعه، درمان مزمن با بربرین (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به کاهش سطح گلوکز خون و افزایش وزن بدن در موش‌های صحرایی دیابتی منجر شد که این نتایج مشابه سایر پژوهش‌ها در این زمینه است.<sup>(۳۱،۳۹،۳۷)</sup> از سوی دیگر، نتایج متضادی در گروه شاهد تحت تیمار با بربرین به دست آمد و در پایان ۷ هفته دریافت بربرین، وزن نمونه‌های این گروه در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت. یکی از مکانیسم‌های پیشنهادی در این زمینه مهار آنزیم‌های دی ساکاریداز و گلوکورنیداز و در نتیجه مهار جذب قند در روده نمونه‌هاست که به کاهش وزن بدن منجر می‌شود و مطالعه حاضر نیز یافته فوق را تأیید می‌کند.<sup>(۳۸-۴۰)</sup>

دیابت ملیتوس به شدت با اختلال‌های عملکردی در سیستم اعصاب مرکزی همراه است.<sup>(۶)</sup> برخی مطالعه‌ها نشان داده‌اند که عوامل مختلفی سبب آسیب‌های مغزی ناشی از دیابت می‌شود.<sup>(۴۱)</sup> اگرچه مکانیسم بروز این اختلال‌ها به خوبی شناخته نشده، ولی مشخص شده است که دو ناحیه قشر مغز و هیپوکامپ از نواحی اصلی مرتبط با این روندها هستند که به واسطه دیابت تحت تأثیر قرار می‌گیرند. دیابت قندی موجب تشدید تنش اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی در برخی نواحی مغزی شامل هیپوکامپ می‌شود و سطح عوامل رشد شبه انسولین و عامل نوروتروفیک مشتق از مغز در برخی نواحی مغز کاهش می‌یابد.<sup>(۴۲-۴۵)</sup>

در ارزیابی رفتار اجتنابی غیرفعال، تفاوت معنی‌داری از نظر زمان تأخیر اولیه (IL) میان گروه‌ها مشاهده نشد که این امر به مفهوم عدم تغییر توانایی موش‌ها در کسب اطلاعات و مهارت‌های جدید در گروه‌های دیابتی و دیابتی تیمار شده با بربرین در مقایسه با گروه شاهد است. این یافته با نتایج تحقیق بایدس و همکاران مطابقت

طولانی مدت (LTP) را نیز افزایش می‌دهد. همچنین GLP-1 از طریق تعدیل رهایش انتقال دهنده‌های عصبی می‌تواند بر فعالیت نورون‌ها تأثیر گذارد.<sup>(۵۴و۵۳)</sup> در مطالعه دیگری نشان داده شده است که تزریق GLP-1 میزان شلیک خود به خودی نورون‌ها را در هیپوکامپ به شدت افزایش می‌دهد.<sup>(۵۵)</sup> برخی از محققین نشان داده‌اند که GLP-1 نه تنها به طور مستقیم در آزاد شدن انتقال دهنده‌های عصبی و تشکیل LTP مداخله می‌کند، بلکه سیناپس‌ها را در برابر آثار مضر قطعه‌های بتا آمیلوئید محافظت می‌کند.<sup>(۵۷و۵۶)</sup> از آنجا که بربرین آزاد شدن GLP-1 و تولید آن را در حیوان‌های دیابتی افزایش می‌دهد،<sup>(۵۹و۵۸و۳۶)</sup> به نظر می‌رسد بربرین می‌تواند اختلال عملکرد شناختی ناشی از دیابت را از طریق تعدیل گیرنده GLP-1 بهبود بخشد.

به طور کلی، مطالعه حاضر نشان داد که بربرین می‌تواند حافظه فضایی کوتاه مدت، یادگیری و حافظه اجتنابی غیرفعال را در موش‌های دیابتی بهبود بخشد. اگرچه برای روشن شدن مکانیسم دقیق آن انجام آزمایش‌های تکمیلی ضروری است.

#### \* سپاس‌گزاری:

از همکاری خانم‌ها نوروزی، داور دوست و فضلی در انجام آزمایش‌ها قدردانی می‌شود.

#### \* مراجع:

1. Guyton AC, Hall IE. Medical physiology. 11th ed. Philadelphia: W.B Elsever Sanders; 2006. 1001-8
2. Pop-Busui R, Sima A, Stevens M. Diabetic neuropathy and oxidative stress. Diabetes Metab Res Rev 2006 Jul-Aug; 22 (4): 257-73
3. Jakus V, Rietbrock N. Advanced glycation end-products and the progress of diabetic vascular complications. Physiol Res 2004; 53 (2): 131-42

داده‌اند، فرضیه‌های زیر در خصوص نقش بربرین در پیشگیری از اختلال عملکرد شناختی ناشی از دیابت محتمل به نظر می‌رسد:

با توجه به انطباق نتایج مطالعه حاضر با آثار آنتی اکسیدانی بربرین، به نظر می‌رسد بربرین پراکسیداسیون لیپیدها را کاهش می‌دهد، به عنوان یک جمع‌کننده رادیکال‌های آزاد عمل می‌کند و با جلوگیری از تجمع گونه‌های اکسیژن فعال و تنش اکسیداتیو، از کاهش عملکرد شناختی هیپوکامپ ناشی از دیابت در موش‌های صحرایی دیابتی جلوگیری می‌کند.<sup>(۴۸و۴۱)</sup>

علاوه بر این، مطالعه‌ها نشان داده‌اند که بربرین با مهار فعالیت آنزیم استیل کولین استراز می‌تواند در مدل ایجاد آزیمر در موش‌های صحرایی نقش مهمی در بهبود اختلال‌های حافظه‌ای ایفا کند.<sup>(۳۵و۳۴)</sup>

همچنین بربرین با مهار سیکلواکسیژناز (COX<sub>2</sub>) دارای خواص ضدالتهابی است. به تازگی برای مهارکننده‌های COX<sub>2</sub> به سبب ویژگی ضد التهابی آن‌ها، نقش حفاظت‌گر نورونی نیز متصور شده‌اند،<sup>(۵۰و۴۹)</sup> لذا تصور می‌شود که بربرین ممکن است به سبب توانایی در مهار بیان سیکلواکسیژناز و در نتیجه کاهش تولید پروستاگلاندین‌های مختلف از جمله PGE<sub>2</sub> در درمان اختلال‌های عصبی مفید واقع شود.<sup>(۵۱و۴۹)</sup>

همچنین مشخص شده است که در مراحل اولیه القای دیابت با استرپتوزوتوسین، با افزایش غلظت خارج سلولی گلوتامات در مغز آثار نوروتوکسیک ایجاد می‌شود.<sup>(۵۰و۴۹)</sup> از سوی دیگر یو و همکاران نشان دادند که بربرین در نورون‌های هیپوکامپ موش‌های صحرایی دیابتی، سمیت سلولی ناشی از ان متیل دی اسپاراتات (NMDA) را مهار می‌کند. همچنین بربرین اتصال به گیرنده NMDA را در قشر مغز کاهش می‌دهد.<sup>(۵۲و۵۰و۳۴)</sup> براساس مطالعه‌ها، گیرنده‌های GLP-1 خواص مشابه عامل رشد دارند و نقش مؤثری در ایجاد اختلال در عملکرد شناختی، یادگیری و حفاظت نورونی در دیابت ایفا می‌کنند. GLP-1 با تعدیل انتقال سیناپسی، تقویت



4. Jawa A, Kcomt J, Fonseca VA. Diabetic nephropathy and retinopathy. *Med Clin North Am* 2004 Jul; 88 (4): 1001-36
5. Wandell 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 Jun; 23 (2): 68-74
6. Northam EA, Rankins D, Lin A, et al. Central nervous system function in youth with type 1 diabetes 12 years after disease onset. *Diabetes Care* 2009 Mar; 32 (3): 445-50
7. Solomon T. Neuropathy in diabetes. *Medicine* 2010; 38 (12): 649-55
8. Artola A. Diabetes, stress- and ageing-related changes in synaptic plasticity in hippocampus and neocortex-- the same metaplastic process? *Eur J Pharmacol* 2008 May 6; 585 (1): 153-62
9. Reisi P, Babri S, Alaei H, et al. Effects of treadmill running on short-term pre-synaptic plasticity at dentate gyrus of streptozotocin-induced diabetic rats. *Brain Res* 2008 May 23; 1211: 30-6
10. Reisi P, Babri S, Alaei H, et al. Treadmill running improves long-term potentiation (LTP) defects in streptozotocin-induced diabetes at dentate gyrus in rats. *Pathophysiology* 2010 Feb; 17 (1): 33-8
11. Biessels GJ, Kamal A, Ramakers GM, et al. Place learning and hippocampal synaptic plasticity in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes* 1996 Sep; 45 (9): 1259-66
12. Kamal A, Biessels GJ, Duis SE, Gispen WH. Learning and hippocampal synaptic plasticity in streptozotocin-diabetic rats: interaction of diabetes and ageing. *Diabetologia* 2000 Apr; 43 (4): 500-6
13. Yang B, Sakurai T, Takata T, Yokono K. Effects of lactate / pyruvate on synaptic plasticity in the hippocampal dentate gyrus. *Neurosci Res* 2003 Jul; 46 (3): 333-7
14. Magarinos AM, Verdugo JM, McEwen BS. Chronic stress alters synaptic terminal structure in hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997 Dec 9; 94 (25): 14002-8
15. Magarinos AM, McEwen BS. Experimental diabetes in rats causes hippocampal dendritic and synaptic reorganization and increased glucocorticoid reactivity to stress. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000 Sep 26; 97 (20): 11056-61
16. Reagan LP, Magarinos AM, Yee DK, et al. Oxidative stress and HNE conjugation of GLUT3 are increased in the hippocampus of diabetic rats subjected to stress. *Brain Res* 2000 Apr 17; 862 (1-2): 292-300
17. Trudeau F, Gagnon S, Massicotte G. Hippocampal synaptic plasticity and glutamate receptor regulation: influences of diabetes mellitus. *Eur J Pharmacol* 2004 Apr 19; 490 (1-3): 177-86
18. Biessels GJ, Kerssen A, de Haan EH, Kappelle LJ. Cognitive dysfunction and diabetes: implications for primary care. *Prim Care Diabetes* 2007 Dec; 1 (4): 187-93
19. Imanshahidi M, Hosseinzadeh H. Pharmacological and therapeutic effects of *Berberis vulgaris* and its active constituent, berberine. *Phytother Res* 2008 Aug; 22 (8): 999-1012
20. Kulkarni SK, Dhir A. On the mechanism of antidepressant-like action of berberine chloride. *Eur J Pharmacol* 2008 Jul 28; 589 (1-3): 163-72
21. Kulkarni SK, Dhir A. Berberine: a plant alkaloid with therapeutic potential for central nervous system disorders. *Phytother Res* 2010 Mar; 24 (3): 317-24
22. Lee YS, Kim WS, Kim KH, et al. Berberine, a natural plant product, activates

- AMP-activated protein kinase with beneficial metabolic effects in diabetic and insulin-resistant states. *Diabetes* 2006 Aug; 55 (8): 2256-64
23. Gu Y, Zhang Y, Shi X, et al. Effect of traditional Chinese medicine berberine on type 2 diabetes based on comprehensive metabonomics. *Talanta* 2010 May 15; 81 (3): 766-72
24. Bhutada P, Mundhada Y, Bansod K, et al. Protection of cholinergic and antioxidant system contributes to the effect of berberine ameliorating memory dysfunction in rat model of streptozotocin- induced diabetes. *Behav Brain Res* 2011 Jun 20; 220 (1): 30-41
25. Cok A, Plaisier C, Salie MJ, et al. Berberine acutely activates the glucose transport activity of GLUT1. *Biochimie* 2011 Jul; 93 (7): 1187-92
26. Leng SH, Lu FE, Xu LJ. Therapeutic effects of berberine in impaired glucose tolerance rats and its influence on insulin secretion. *Acta Pharmacol Sin* 2004 Apr; 25 (4): 496-502
27. Tang LQ, Wei W, Chen LM, Liu S. Effects of berberine on diabetes induced by alloxan and a high-fat/high-cholesterol diet in rats. *J Ethnopharmacol* 2006 Nov 3; 108 (1): 109-15
28. Yin J, Xing H, Ye J. Efficacy of berberine in patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism* 2008 May; 57 (5): 712-7
29. Zhang Y, Li X, Zou D, et al. Treatment of type 2 diabetes and dyslipidemia with the natural plant alkaloid berberine. *J Clin Endocrinol Metab* 2008 Jul; 93 (7): 2559-65
30. Kong WJ, Zhang H, Song DQ, et al. Berberine reduces insulin resistance through protein kinase C-dependent up-regulation of insulin receptor expression. *Metabolism* 2009 Jan; 58 (1): 109-19
31. Zhou J, Zhou S, Tang J, et al. Protective effect of berberine on beta cells in streptozotocin- and high-carbohydrate/high-fat diet-induced diabetic rats. *Eur J Pharmacol* 2009 Mar 15; 606 (1-3): 262-8
32. Huang L, Shi A, He F, Li X. Synthesis, biological evaluation, and molecular modeling of berberine derivatives as potent acetylcholinesterase inhibitors. *Bioorg Med Chem* 2010 Feb; 18 (3): 1244-51
33. Peng, WH, Hsieh MT, Wu CR. Effect of long-term administration of berberine on scopolamine-induced amnesia in rats. *Jpn J Pharmacol* 1997 Jul; 74 (3): 261-6
34. Yoo JH, Yang EM, Cho JH, et al. Inhibitory effects of berberine against morphine-induced locomotor sensitization and analgesic tolerance in mice. *Neuroscience* 2006 Nov 3; 142 (4): 953-61
35. Zhu FQ, 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
36. Yu Y, Liu L, Wang X, et al. Modulation of glucagon-like peptide-1 release by berberine: in vivo and in vitro studies. *Biochem Pharmacol* 2010 Apr 1; 79 (7): 1000-6
37. Buccafusco JJ. Methods of behaviour analysis in neuroscience. In: Sidney AS, Miguel AL, editors. *Methods and new frontiers in neuroscience series*. Boca Raton, New York: Barbara Norwitz; 2001. 156-63
38. Li ZQ, Zuo DY, Qie XD, et al. Berberine acutely inhibits the digestion of maltose in the intestine. *J Ethnopharmacol* 2012 Jul 13; 142 (2): 474-80
39. Liu L, Deng Y, Yu S, et al. Berberine attenuates intestinal disaccharidases in

- streptozotocin- induced diabetic rats. *Pharmazie* 2008 May; 63 (5): 384-8
40. Pan GY, Wang GJ, Sun JG, et al. Inhibitory action of berberine on glucose absorption. *Yao Xue Xue Bao* 2003 Dec; 38 (12): 911-4
41. Cameron NE, Eaton SE, Cotter MA, Tesfaye S. Vascular factors and metabolic interactions in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Diabetologia* 2001 Nov; 44 (11): 1973-88
42. Biessels GJ, ter Laak MP, Kamal A, Gispen WH. Effects of the Ca<sup>2+</sup> antagonist nimodipine on functional deficits in the peripheral and central nervous system of streptozotocin-diabetic rats. *Brain Res* 2005 Feb 21; 1035 (1): 86-93
43. Artola A, Kamal A, Ramakers GM, et al. Diabetes mellitus concomitantly facilitates the induction of long-term depression and inhibits that of long-term potentiation in hippocampus. *Eur J Neurosci* 2005 Jul; 22 (1): 169-78
44. Nitta A, Murai R, Suzuki N, et al. Diabetic neuropathies in brain are induced by deficiency of BDNF. *Neurotoxicol Teratol* 2002 Sep-Oct; 24(5): 695-701
45. Mayer G, Nitsch R, Hoyer S. Effects of changes in peripheral and cerebral glucose metabolism on locomotor activity, learning and memory in adult male rats. *Brain Res* 1990 Nov 5; 532 (1-2): 95-100
46. Baydas G, Nedzvetskii VS, Nerush PA, et al. Altered expression of NCAM in hippocampus and cortex may underlie memory and learning deficits in rats with streptozotocin- induced diabetes mellitus. *Life Sci* 2003 Aug 29; 73 (15): 1907-16
47. Sima AA, Li ZG. The effect of C-peptide on cognitive dysfunction and hippocampal apoptosis in type 1 diabetic rats. *Diabetes* 2005 May; 54 (5): 1497-505
48. Ye L, Wang F, Yang RH. Diabetes impairs learning performance and affects the mitochondrial function of hippocampal pyramidal neurons. *Brain Res* 2011 Sep 9; 1411: 57-64
49. Dhir A, Naidu PS, Kulkarni SK. Neuroprotective effect of nimesulide, a preferential COX-2 inhibitor, against pentylentetrazol (PTZ)-induced chemical kindling and associated biochemical parameters in mice. *Seizure* 2007 Dec; 16 (8): 691-7
50. Yoo HJ, Kang HJ, Jung HJ, et al. Anti-inflammatory, anti-angiogenic and anti-nociceptive activities of *Saururus chinensis* extract. *J Ethnopharmacol* 2008 Nov 20; 120 (2): 282-6
51. Shin S, Jeon JH, Park D, et al. Anti-inflammatory effects of an ethanol extract of *Angelica gigas* in a Carrageenan-air pouch inflammation model. *Exp Anim* 2009 Jul; 58 (4): 431-6
52. Molteni R., Ying Z, Gomez-Pinilla F. Differential effects of acute and chronic exercise on plasticity-related genes in the rat hippocampus revealed by microarray. *Eur J Neurosci* 2002 Sep; 16 (6): 1107-16
53. McClean PL, Gault VA, Harriott P, Holscher C. Glucagon-like peptide-1 analogues enhance synaptic plasticity in the brain: a link between diabetes and Alzheimer's disease. *Eur J Pharmacol* 2010 Mar 25; 630 (1-3): 158-62
54. Holscher C. The role of GLP-1 in neuronal activity and neurodegeneration. *Vitam Horm* 2010; 84: 331-54
55. Abbas T, Faivre E, Holscher C. Impairment of synaptic plasticity and memory formation in GLP-1 receptor KO mice: Interaction between type 2 diabetes and

Alzheimer's disease. *Behav Brain Res* 2009 Dec 14; 205 (1): 265-71

56. Moloney AM, Griffin RJ, Timmons S, et al. Defects in IGF-1 receptor, insulin receptor and IRS-1/2 in Alzheimer's disease indicate possible resistance to IGF-1 and insulin signalling. *Neurobiol Aging* 2010 Feb; 31 (2): 224-43

57. Gault VA, Holscher C. GLP-1 agonists facilitate hippocampal LTP and reverse the impairment of LTP induced by beta-amyloid. *Eur J Pharmacol* 2008 Jun 10; 587 (1-3): 112-7

58. Lu SS, Yu YL, Zhu HJ, et al. Berberine promotes glucagon-like peptide-1 (7-36) amide secretion in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Endocrinol* 2009 Feb; 200 (2): 159-65

59. Liu LZ, Cheung SC, Lan LL, et al. Berberine modulates insulin signaling transduction in insulin-resistant cells. *Mol Cell Endocrinol* 2010 Apr 12; 317 (1-2): 148-53

Archive of SID