

تحقیقی

اثر پالماتین هیدروکلراید بر اختلالات شناختی

موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

ملیحه آهوئی*^۱، دکتر غلامحسن واعظی^۲، دکتر حمید کالیان مقدم^۳، فاطمه علم الهدی^۱

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان.

۲- دانشیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان. ۳- استادیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود.

چکیده

زمینه و هدف: بیماری دیابت منجر به بروز اختلالات شناختی، یادگیری و حافظه‌ای می‌شود. پالماتین هیدروکلراید، آلکالوئیدی ایزوکینولین است که دارای آثار فارماکولوژیکی متعدد از جمله اثر ضد دیابت و آنتی‌اکسیدان است. این مطالعه به منظور تعیین اثر پالماتین هیدروکلراید بر اختلالات شناختی موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین انجام شد.

روش بررسی: این مطالعه تجربی روی ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی 24.0 ± 4.0 گرم انجام شد. موش‌ها به‌طور تصادفی به چهار گروه ۸ تایی کنترل دیابتی، دیابتی تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید، کنترل سالم و غیردیابتی تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید تقسیم شدند. دیابت با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین با دوز 55 mg/kg القاء گردید. یک هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین، تیمار روزانه با پالماتین هیدروکلراید با دوز 10 mg/kg/bw به مدت شش هفته به صورت زیرجلدی انجام گردید. با نمونه‌گیری از سیاهرگ دمی میزان قند خون در هفته‌های ۱، ۳، ۵ و ۷ پس از تزریق استرپتوزوتوسین سنجش شد. در پایان، گروه‌ها با آزمون‌های رفتاری شناخت فضایی (*spatial recognition*) و شناخت اجسام (*objective recognition*) مورد ارزیابی قرار گرفتند. داده‌ها با نرم‌افزار آماری *prism-5.0* و آزمون‌های *one way ANOVA* و *Tukey* تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: در آزمون شناخت فضایی، تعداد ورود حیوان به بازوی جدید *Y maze* در گروه دیابتی تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید در هر دو هفته ششم و هفتم افزایش آماری معنی‌داری نسبت به گروه دیابتی داشت ($P < 0.05$). تعداد ایستادن در بازوی جدید نیز در هفته ششم و هفتم افزایش آماری معنی‌داری نسبت به گروه دیابتی نشان داد ($P < 0.05$). در آزمون شناخت اجسام نیز گروه دیابتی تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید، در تعداد بررسی جسم جدید، افزایش آماری معنی‌داری نسبت به گروه دیابتی نشان دادند ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز پالماتین هیدروکلراید با دوز 10 mg/kg/bw روزانه به مدت شش هفته منجر به بهبود اختلالات شناختی از جمله حافظه و یادگیری در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین می‌شود.

کلید واژه‌ها: دیابت ملیتوس، پالماتین هیدروکلراید، اختلالات شناختی، حافظه، یادگیری

* نویسنده مسؤول: ملیحه آهوئی، پست الکترونیکی ahouee@yahoo.com

نشانی: دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دامغان، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی، تلفن ۰۲۷۳-۳۳۳۵۷۲۹، نامبر ۳۳۳۳۹۰۲
وصول مقاله: ۹۰/۱۱/۳۰، اصلاح نهایی: ۹۱/۳/۲۰، پذیرش مقاله: ۹۱/۳/۲۲

مقدمه

دیابت ملیتوس یک اختلال متابولیک و یکی از شایع‌ترین بیماری‌های سیستم غدد درون‌ریز بدن محسوب می‌شود که با افزایش قندخون و عدم کفایت ترشح و یا عملکرد انسولین مشخص می‌شود (۱ و ۲). زمانی دیابت نوع اول علائم خود را نشان می‌دهد که اکثر سلول‌های بتای پانکراس تخریب شده‌اند. این نوع دیابت در نتیجه تقابل عوامل ژنتیکی، محیطی و ایمنولوژیک ایجاد می‌شود (۳). کمبود و یا کاهش نسبی میزان انسولین در این بیماری با عوارض متابولیک حادای نظیر کتواسیدوز دیابتی، اغمای

هیپراسمولار (۴) و با اختلالات مزمنی نظیر نوروپاتی (۳ و ۵) و اختلالات عملکرد شناختی همراه است (۳).

نوروپاتی شایع‌ترین عارضه دیابت (۶) و یکی از علل مرگ و میر بیماران دیابتی است (۷). تاکنون تحقیقات زیادی در ارتباط با دیابت و نوروپاتی محیطی انجام شده است. دیابت به ویژه دیابت نوع یک، موجب بروز اختلال در روندهای مرتبط با یادگیری، حافظه و سایر اختلالات شناختی در حیوانات مبتلا می‌شود که مکانیسم‌های آن به خوبی مشخص نشده است (۸). شواهدی مبنی بر دو فرضیه میکروواسکولار و استرس اکسیداتیو ناشی از

است؛ این مطالعه به منظور تعیین اثر پالماتین هیدروکلراید بر اختلالات شناختی موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۳۲ موش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن تقریبی 240 ± 40 گرم خریداری شده از مؤسسه پاستور کرج در دانشگاه علوم پزشکی شاهرود در سال ۱۳۹۰ انجام شد.

این مطالعه با رعایت اصول اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی و براساس مجوز شماره ۹۱/۱۰۳۲/۹۱ انجام شد. به منظور انطباق حیوانات با محیط، از یک هفته قبل از شروع آزمایش؛ موش‌ها در محیط آزمایشگاه با دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد با دسترسی آزادانه به آب و غذا نگهداری شدند.

موش‌ها به‌طور تصادفی به چهار گروه ۸ تایی کنترل دیابتی، دیابتی تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید، کنترل سالم و غیردیابتی تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید تقسیم شدند.

دیابت با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین (S0130) شرکت سیگما با دوز 55 mg/kg حل شده در بافر سیترات (۰/۰۵M) با $\text{pH}=4/5$ القاء گردید. سنجش قندخون، یک هفته بعد از تزریق STZ و با استفاده از خون سیاهرگ دمی به کمک دستگاه گلوکوکارد ۰۱ USA انجام شد. موش‌هایی با قندخون بالاتر از 300 mg/dl دیابتی در نظر گرفته شدند. میزان قندخون گروه‌ها هر دو هفته یک بار ارزیابی گردید.

یک هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین (STZ)، گروه درمانی تحت تیمار با دارو و گروه غیردیابتی تیمار با دارو، روزانه پالماتین هیدروکلراید (SC-۲۰۵۷۸۸) شرکت سانتاکروز بیوتکنولوژی را با دوز 10 mg/kg/bw به مدت شش هفته به صورت زیرجلدی دریافت نمودند.

در پایان هفته ششم پس از تزریق استرپتوزوتوسین، برای سنجش رفتار شناخت فضایی از دستگاه Y maze استفاده شد. این دستگاه مازی Y شکل بوده و دارای سه بازوی یکسان است. ابعاد هر بازو $50 \times 30 \times 15$ سانتی‌متر است. برای انجام آزمون (۲۴) ابتدا یک بازو با کمک درب گیوتینی بسته و سپس موش‌ها به نوبت از بازوی دیگر به Y maze وارد شدند و اجازه داده شد تا برای مدت ۵ دقیقه بین دو بازوی باز، رفت‌وآمد کنند. سپس موش‌ها به قفس برگردانده شدند. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه مجدداً موش را از بازوی شروع حرکت، وارد نمودیم؛ اما این بار درب گیوتینی بازوی مسدود را برداشتیم و اجازه داده شد تا حیوان برای مدت ۵ دقیقه، در بین سه بازو رفت و آمد کند و در تمام مدت از حرکت موش، فیلمبرداری شد. پس از فیلمبرداری، تعداد دفعات حرکت در بازوی جدید، تعداد دفعات ایستادن روی دو پای عقب، در بازوی جدید و مدت

رادیکال‌های آزاد اکسیژن مطرح است (۹). از این رو به منظور برطرف کردن آسیب‌های اکسیداتیو، محققین از داروهای متعدد با خاصیت آنتی‌اکسیدان از جمله ویتامین A، ویتامین C و بتاکاروتن استفاده نموده‌اند (۱۰).

افزایش قندخون از چند مسیر جداگانه استرس اکسیداتیو را القا می‌نماید. از جمله می‌توان عدم تعادل اکسیداسیون و احیاء، افزایش فعالیت آلدوز ردوکناز (۱۱)، افزایش محصولات نهایی گلیکوزیلاسیون (۱۲)، تغییر در فعالیت پروتئین کیناز C، اختلال در تعادل پروستاگلندینها (۱۳ و ۱۴) و افزایش تولید سوپراکسیدهای میتوکندریایی را نام برد (۱۵). 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 (۱۶).

پالماتین هیدروکلراید یک پروتوبربرین از گروه آلکالوئیدها است که در ریشه و پوست ساقه خانواده‌های گیاهی متعددی از جمله *Coptis chinensis franch*، *Berberis aristata* و *Coptidis rhizoma* یافت شده است (۱۷-۱۹). این ترکیب دارای آثار آنتی‌اکسیدان، ضدالتهابی، ضد مالاریا، ضد میکربی، ضد سرطان، آرام‌بخشی (۲۰) و کاهش قند و چربی خون (۲۱) است. پالماتین سبب تحریک ترشح انسولین می‌شود (۲۲)؛ میزان سوپراکسید دسموتاز و کاتالاز را افزایش می‌دهد و آزادسازی رادیکال‌های آزاد را کاهش می‌دهد (۱۹). این توانایی بیانگر خاصیت آنتی‌اکسیدان پالماتین هیدروکلراید است. همچنین این ماده به دلیل دارا بودن عملکرد ضدالتهابی، باعث تنظیم پاسخ سیتوکین‌ها و مهار مرگ سلولی می‌شود (۲۱). ریشه گیاه کاپتیس یک فرآورده دارویی مهم در چین است که به تهایی و یا به شکل ترکیبی در درمان دیابت مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۷). همچنین گیاه زرشک خاردار (*Berberis aristata*) که در طب هندوستان به عنوان Daruharidra شناخته می‌شود؛ به‌طور گسترده در سیستم‌های مختلف پزشکی سنتی برای درمان انواع بیماری‌ها از جمله بیماری‌های چشم، گوش، رماتیسم، یرقان، دیابت، اختلالات معده، پوست، تب مالاریا و به عنوان نیروبخش استفاده شده است. اجزای سازنده آن شامل بربرین، برامین، پالماتین و چند ماده دیگر است. به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست ساقه گیاه، موش‌های صحرایی دیابتی شده با آلوکسان، محافظت قابل ملاحظه‌ای در برابر انواع اکسیژن به دست آوردند (۱۸). همچنین این ترکیب سبب تنظیم هموستاز گلوکز از طریق کاهش گلوکونوزن و استرس اکسیداتیو می‌شود (۲۳). با توجه به شواهد متعدد که نشان‌دهنده نقش مؤثر پالماتین و گیاهان دارنده پالماتین در کاهش عوارض هیپرگلیسمی و تنظیم اختلالات اکسیداتیو ناشی از القای دیابت

کاهش معنی داری نشان داد ($P < 0/001$). این میزان در گروه دیابتی تیمار با دارو ($217/1 \pm 5/857$ گرم) از هفته پنجم به بعد، افزایش معنی داری نسبت به گروه کنترل دیابتی ($177/8 \pm 10/50$ گرم) نشان داد ($P < 0/001$) و از هفته سوم کاهش ($218/1 \pm 3/623$ گرم) معنی دار وزن نسبت به گروه کنترل تیمار با دارو ($254/1 \pm 1/420$ گرم) مشاهده گردید ($P < 0/01$). همچنین در وزن گروه کنترل دیابتی ($201/4 \pm 9/552$ گرم) از هفته سوم به بعد کاهش آماری معنی داری نسبت به گروه کنترل ($258 \pm 6/874$ گرم) مشاهده شد ($P < 0/001$) (جدول یک).

در ارزیابی میزان قندخون، گروه دیابتی تیمار با دارو ($356/5 \pm 44/88$ mg/dl) از هفته سوم به بعد، کاهش معنی داری نسبت به گروه کنترل دیابتی ($489/9 \pm 25/56$ mg/dl) نشان داد ($P < 0/05$) (جدول یک).

در آزمون شناخت فضایی، حرکت به سمت بازوی جدید در گروه دیابتی تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید در هفته‌های ششم ($4/25 \pm 0/6478$) و هفتم ($3/5 \pm 0/6814$) ($P < 0/05$)، نسبت به گروه کنترل دیابتی (به ترتیب $2 \pm 0/189$ و $1/625 \pm 0/2631$) افزایش معنی داری نشان داد (نمودار یک).

تعداد ایستادن در بازوی جدید در گروه دیابتی تیمار شده با دارو در هفته‌های ششم ($11/25 \pm 1/521$) و هفتم ($7/75 \pm 1/8$) ($P < 0/05$) نسبت به گروه کنترل دیابتی به طور معنی داری افزایش یافت (نمودار ۲).

مدت زمان تأخیر در انتخاب بازوی جدید در گروه دیابتی تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید در هفته هفتم ($7/5 \pm 2/982$) نسبت به گروه کنترل دیابتی ($26/75 \pm 7/161$) کاهش معنی داری نشان داد ($P < 0/05$) (نمودار ۳).

زمان تأخیر در انتخاب بازوی جدید، ارزیابی شد. منظور از ورود حیوان به یک بازو، ورود هر چهار پای موش به آن بازو بود. همچنین طی آزمون شرایط دیداری محیط آزمون ثابت نگاه داشته شد. این آزمون یک هفته بعد مجدداً تکرار شد؛ با این تفاوت که فاصله بین مرحله فراگیری و بازیابی به جای ۳۰ دقیقه، ۲ دقیقه در نظر گرفته شد. سه متغیر حرکت به سمت بازوی جدید، تعداد ایستادن در بازوی جدید و مدت زمان تاخیر، متغیرهای شناخت فضایی در نظر گرفته شدند.

برای آزمون شناسایی اجسام (۲۴) هریک از موش‌ها روزانه به مدت ۱۵ دقیقه و برای یک هفته در جعبه سفیدرنگ چوبی به ابعاد $40 \times 40 \times 16$ سانتی‌متر قرار داده شدند. پس از گذشت یک هفته، دو جسم یکسان در جعبه قرار داده شد و هریک از موش‌ها برای مدت ۱۰ دقیقه در جعبه مستقر شدند. بعد از گذشت ۳۰ دقیقه یکی از اجسام با جسم جدیدی تعویض شد و مجدداً هریک از موش‌ها برای مدت ۵ دقیقه در جعبه قرار گرفتند. در تمام مدت آزمایش از موش‌ها فیلمبرداری شد. در بررسی فیلم‌ها، مدت زمان تأخیر در انتخاب جسم جدید و تعداد دفعات بررسی جسم جدید توسط موش را ارزیابی نمودیم. منظور از شناسایی جسم، تماس بینی جانور با جسم یا اشاره بینی به جسم بود. موش‌های همه گروه‌ها دو هفته یکبار (هفته‌های ۱ و ۳ و ۵) با ترازوی دیجیتال AND ژاپن وزن شدند.

داده‌های گروه‌ها در پایان هفته هفتم با نرم‌افزار آماری prism-5.0 و آزمون‌های one way ANOVA و Tukey تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

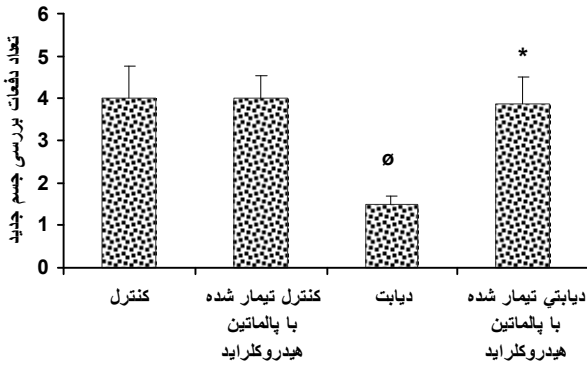
یافته‌ها

وزن موش‌های گروه کنترل تیمار با دارو ($278/4 \pm 0/5324$ گرم) در مقایسه با گروه کنترل ($322/9 \pm 3/362$ گرم) در هفته هفتم

جدول ۱: مقایسه میانگین و خطای معیار وزن و قندخون در هفته اول و هفته سوم و پنجم و هفتم بین گروه‌های کنترل، کنترل تیمار شده با دوز 10 mg/kg پالماتین هیدروکلراید، دیابتی، دیابتی تیمار شده با دوز 10 mg/kg پالماتین هیدروکلراید

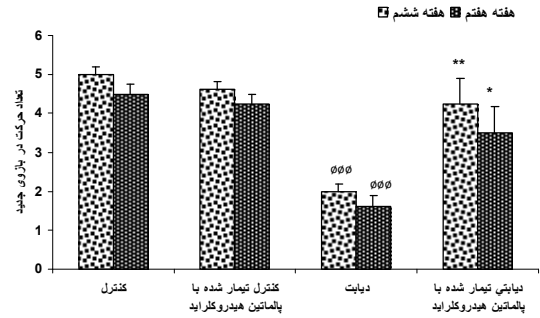
هفته اول	هفته سوم	هفته پنجم	هفته هفتم		
کترل	کترل + دارو	کترل دیابتی	دیابتی + دارو	گلوکز خون (میلی گرم بر دسی‌لیتر)	
$102/4 \pm 4/127$	$97 \pm 2/699$	$98/63 \pm 3/240$	$97/50 \pm 2/612$		
$82/63 \pm 3/128$	$78/88 \pm 4/654$	$77/88 \pm 2/142$	$76/88 \pm 3/399$		
$474/3 \pm 26/80$ 000	$489/9 \pm 25/56$ 000	$546/8 \pm 18/97$ 000	$567/3 \pm 22/57$ 000		
$520/5 \pm 37/70$ 000	$356/5 \pm 44/88$ 000 * و 000	$351 \pm 56/89$ 000 *** و 000	$311/5 \pm 34/40$ 000 *** و 000		
کترل	کترل + دارو	کترل دیابتی	دیابتی + دارو	وزن بدن (گرم)	
$237/3 \pm 6/611$	$258 \pm 6/874$	$294/9 \pm 4/820$	$322/9 \pm 3/362$		
$229/4 \pm 1/822$	$254/1 \pm 1/420$	$275 \pm 1/102$	$278/4 \pm 0/5324$ 000		
$232 \pm 6/248$	$201/4 \pm 9/552$ 000	$177/8 \pm 10/50$ 000	$152 \pm 6/788$ 000		
$229/1 \pm 2/955$	$218/1 \pm 3/623$ 00	$217/1 \pm 5/857$ 000 *** و 000	$210/5 \pm 6/492$ 000 *** و 000		

تفاوت معنی دار با گروه کنترل در سطح $P < 0/001$ با علامت 000 و تفاوت معنی دار با گروه دیابتی در سطح $P < 0/05$ با علامت * و در سطح $P < 0/001$ با علامت *** و تفاوت معنی دار با گروه کنترل تیمار شده با دوز 10 mg/kg پالماتین هیدروکلراید در سطح $P < 0/001$ با علامت 000 و در سطح $P < 0/001$ با علامت 000 نشان داده شده است.



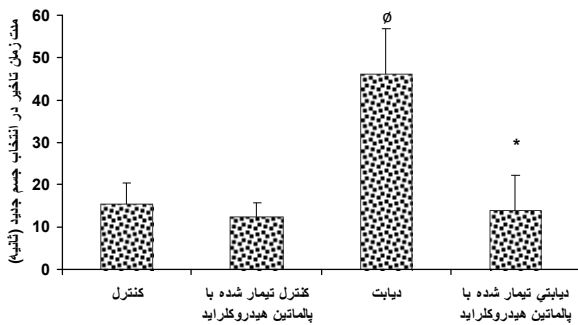
نمودار ۴: مقایسه میانگین و خطای معیار تعداد دفعات بررسی جسم جدید در هفته هفتم بین گروه‌های کنترل، کنترل تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید، دیابت، دیابتی تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید

تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل ($P < 0.05$)
تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی ($P < 0.05$)



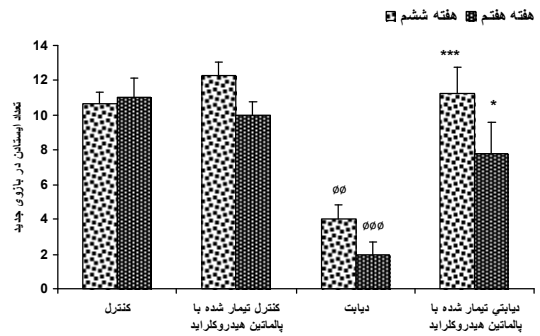
نمودار ۱: مقایسه میانگین و خطای معیار تعداد حرکت در بازوی جدید Y maze در هفته ششم و هفتم بین گروه‌های کنترل، کنترل تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید، دیابت، دیابتی تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید

تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل ($P < 0.001$), * تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی ($P < 0.05$), ** تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی ($P < 0.01$)



نمودار ۵: مقایسه میانگین و خطای معیار مدت زمان تأخیر در انتخاب جسم جدید در هفته هفتم بین گروه‌های کنترل، کنترل تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید، دیابت، دیابتی تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید

تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل ($P < 0.05$)
تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی ($P < 0.05$)



نمودار ۲: مقایسه میانگین و خطای معیار تعداد ایستادن در بازوی جدید Y maze در هفته ششم و هفتم بین گروه‌های کنترل، کنترل تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید، دیابت، دیابتی تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید

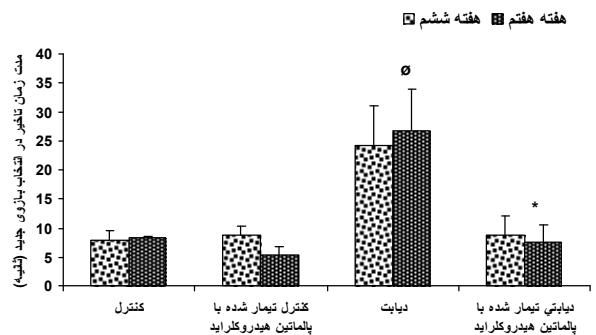
تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل ($P < 0.01$), $\phi\phi\phi$ تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل ($P < 0.001$), * تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی ($P < 0.05$), *** تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی ($P < 0.001$)

در آزمون شناخت اجسام، تعداد دفعات بررسی جسم جدید در گروه دیابتی تحت تیمار با دارو در هفته هفتم ($3/875 \pm 0/6105$) نسبت به گروه کنترل دیابتی ($1/500 \pm 0/1890$) افزایش معنی‌داری نشان داد ($P < 0.05$) (نمودار ۴).

مدت زمان تأخیر در انتخاب جسم جدید در گروه دیابتی تحت تیمار با دارو در هفته هفتم ($13/88 \pm 8/206$) نسبت به گروه کنترل دیابتی ($46/25 \pm 10/64$) کاهش معنی‌داری نشان داد ($P < 0.05$) (نمودار ۵).

بحث

در این مطالعه تجویز زیرجلدی پالماتین هیدروکلراید در موش‌های صحرایی دیابتی، به مدت شش هفته علاوه بر کاهش قندخون سبب افزایش معنی‌دار عملکرد شناخت فضایی و نیز افزایش توانایی حیوان در شناسایی اجسام گردید. در واقع افزایش تعداد دفعات ورود و نیز ایستادن در بازوی جدید، کاهش زمان برای



نمودار ۳: مقایسه میانگین و خطای معیار مدت زمان تأخیر در انتخاب بازوی جدید Y maze در هفته ششم و هفتم بین گروه‌های کنترل، کنترل تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید، دیابت، دیابتی تیمار شده با پالماتین هیدروکلراید

تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل ($P < 0.05$)
تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی ($P < 0.05$)

انتخاب بازوی جدید در Y maze و افزایش شناخت جسم جدید، نشان‌دهنده اثر پالماتین هیدروکلراید در پیشگیری از ایجاد اختلالات شناخت فضایی و شناخت اجسام در گروه‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین است.

در مطالعه Lee و همکاران (۲۱) پالماتین، اینتر لوکین ۱۰ را افزایش داد و از افزایش عامل نکروز تومور آلفا که آبخاری از سیتوکین‌های التهابی را ایجاد می‌کند؛ جلوگیری نمود. پالماتین آسیب‌کبدی ناشی از گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) (reactive oxygen species) را با تعدیل پاسخ سیتوکین‌ها و مهار مرگ سلولی کاهش می‌دهد (۲۱). پالماتین بیان نیتریک اکساید سینتاز و سیکلو‌اکسیژناز ۲ را که دو ژن التهابی مهم هستند؛ کاهش داده و بیان هم‌اکسیژناز ۱ را نیز القاء می‌نماید. گرچه هم‌اکسیژناز ۱ دارای عملکرد آنتی‌اکسیدان و ضدالتهابی است؛ لیکن اثبات این رابطه نیاز به تحقیقات بیشتری دارد (۱۹). در بیماری دیابت تولید محصولات نهایی گلیکوزیلاسیون سبب فعال شدن سیتوکین‌های التهابی نظیر عامل نکروز تومور آلفا می‌شود. این عوامل به نوبه خود موجب افزایش ROS و آسیب نورونی می‌شوند (۲۵). لذا بخشی از آثار محافظت نورونی پالماتین هیدروکلراید، به عملکرد ضدالتهابی آن مربوط است.

پالماتین قادر است فعالیت آنزیم‌های استیل کولین استراز، بوتیریل کولین استراز و منوآمینو اکسیداز را مهار نماید. این آنزیم‌ها از عوامل مهم دخیل در ایجاد بیماری آلزایمر و اختلالات حافظه‌ای ناشی از آن می‌باشند (۲۶). پالماتین هیدروکلراید در حضور عامل رشد عصبی (nerve growth factor: NGF) رشد فیبرهای عصبی را افزایش می‌دهد (۲۷)؛ که خود می‌تواند به عنوان یکی از مکانیسم‌های حفاظت‌گر نورونی پالماتین مورد ارزیابی قرار گیرد.

در مجموع شواهد متعددی اختلالات مرتبط با یادگیری و حافظه را در بیماران دیابتی مشخص نموده و ارتباط معنی‌داری را بین کنترل قندخون و بهبود این اختلالات نشان داده‌اند (۲۸ و ۲۹). پالماتین یکی از ترکیبات اصلی و فعال گیاه بربریس آریستاتا است. بنابر مطالعات انجام شده، عصاره ریشه این گیاه به‌طور معنی‌داری قندخون نمونه‌های دیابتی را کاهش می‌دهد. این ترکیب از طریق افزایش فعالیت گلوکوکیناز و گلوکز ۶ فسفات دهیدروژناز و کاهش فعالیت گلوکز ۶ فسفاتاز، سبب تنظیم هموستاز گلوکز می‌شود (۲۳). لذا می‌توان بخشی از آثار پالماتین هیدروکلراید در پیشگیری از اختلالات مرتبط با شناخت فضایی را به نقش این دارو در کاهش قندخون نمونه‌های دیابتی نسبت داد.

علاوه بر مکانیسم‌های احتمالی فوق‌الذکر، مطالعاتی بر نقش

مخرب استرس اکسیداتیو در بیماران دیابتی و معرفی آنتی‌اکسیدان‌ها به عنوان یک روش درمانی تاکید می‌نمایند (۳۲-۲۹)؛ که بایستی تحقیقات بیشتری در این خصوص صورت گیرد. در این راستا تحقیقاتی نشان داده‌اند که پالماتین هیدروکلراید علاوه بر مکانیسم‌های فوق‌الذکر در هموستاز گلوکز، دارای خواص آنتی‌اکسیدان نیز است (۱۸ و ۱۹). در مطالعه Kim و همکاران (۱۹) پالماتین در سلول‌های اپی‌تلیال توبول‌های کلیوی، تولید پراکسی‌نیتريت را مهار نمود و سلول‌ها را از آسیب ناشی از آن محافظت نمود. همچنین پالماتین هیدروکلراید، مقادیر سوپراکسیدسوماتوز و کاتالاز را افزایش داده و بدین ترتیب قادر بود آزادسازی رادیکال‌های آزاد را کاهش دهد (۱۹). در مجموع می‌توان بخش عمده‌ای از آثار محافظت نورونی این دارو در مقابل اختلالات شناختی ناشی از دیابت را به آثار آنتی‌اکسیدانی آن مربوط دانست.

با توجه به نتایج مطالعه حاضر و دیگر مطالعات (۲۲-۱۸) به نظر می‌رسد که تجویز پالماتین هیدروکلراید به مدت مناسب می‌تواند سبب بهبود اختلالات شناختی شود. زیرا این دارو از یک سو با اثر بر واکنش‌های متابولیکی و آنزیم‌های درگیر در هموستاز گلوکز و از سوی دیگر با کاهش استرس اکسیداتیو و آثار مخرب ناشی از آن می‌تواند از تخریب احتمالی و اختلال نورون‌های ناحیه هیپوکامپ موش‌های صحرایی دیابتی جلوگیری نماید و بهبود چشمگیری در عملکرد شناختی نمونه‌ها ایجاد کند. دیابت سبب نقص در پلاستی سیتی سیناپتیک هیپوکامپ و در نتیجه ایجاد اختلالات شناختی در نمونه‌های دیابتی می‌شود (۳۳). با توجه به مطالعات اندک در زمینه اثرات پالماتین هیدروکلراید پیشنهاد می‌گردد تا مکانیسم‌های مرتبط با آن در تحقیقات بعدی مورد آزمون قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز پالماتین هیدروکلراید با دوز ۱۰ mg/kg/bw روزانه به مدت شش هفته منجر به بهبود اختلالات شناختی از جمله حافظه و یادگیری در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه خانم ملیحه آهویی برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته زیست‌شناسی گرایش فیزیولوژی از دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان بود. بدین وسیله از همه عزیزانی که ما را در انجام این مطالعه یاری نمودند؛ صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نماییم.

References

- Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB 3rd. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J Biochem Mol Toxicol*. 2003;17(1):24-38.
- Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes mellitus: complications and therapeutics. *Med Sci Monit*. 2006 Jul;12(7):RA130-47.
- Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, et al. *Harrison's principles of internal medicine*. 17th. New Jersey: McGraw-Hill. 2008; pp: 2060-5.
- 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 Jun;23(2):68-74.
- Pop-Busui R, Sima A, Stevens M. Diabetic neuropathy and oxidative stress. *Diabetes Metab Res Rev*. 2006 Jul-Aug;22(4):257-73.
- Figuerola-Romero C, Sadidi M, Feldman EL. Mechanisms of disease: the oxidative stress theory of diabetic neuropathy. *Rev Endocr Metab Disord*. 2008 Dec;9(4):301-14.
- Galer BS, Gianas A, Jensen MP. Painful diabetic polyneuropathy: epidemiology, pain description, and quality of life. *Diabetes Res Clin Pract*. 2000 Feb;47(2):123-8.
- 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 Jan;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 May;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 Aug;29(4):482-8.
- 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 aldose reductase inhibitor. *Brain*. 2001 Dec;124(Pt 12):2448-58.
- Jakus V, Rietbrock N. Advanced glycation end-products and the progress of diabetic vascular complications. *Physiol Res*. 2004;53(2):131-42.
- 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 Aug;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 Nov-Dec;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 Apr;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 Oct-Dec;1799(10-12):854-65.
- Yuan L, Tu D, Ye X, Wu J. Hypoglycemic and hypocholesterolemic effects of *Coptis chinensis* franch inflorescence. *Plant Foods Hum Nutr*. 2006 Sep;61(3):139-44.
- Gupta JK, Mishra P, Rani A, Mazumder PM. Blood glucose lowering potential of stem bark of berberis aristata Dc in Alloxan-induced diabetic Rats. *Iran J Pharmacol Ther*. 2010;9(1):21-4.
- Kim YM, Ha YM, Jin YC, Shi LY, Lee YS, Kim HJ, et al. Palmatine from *Coptidis rhizoma* reduces ischemia-reperfusion-mediated acute myocardial injury in the rat. *Food Chem Toxicol*. 2009 Aug;47(8):2097-102.
- Shin JS, Kim EI, Kai M, Lee MK. Inhibition of dopamine biosynthesis by protoberberine alkaloids in PC12 cells. *Neurochem Res*. 2000 Mar;25(3):363-8.
- Lee WC, Kim JK, Kang JW, Oh WY, Jung JY, Kim YS, et al. Palmatine attenuates D-galactosamine/lipopolysaccharide-induced fulminant hepatic failure in mice. *Food Chem Toxicol*. 2010 Jan;48(1):222-8.
- Patel MB, Mishra S. Hypoglycemic activity of alkaloidal fraction of *Tinospora cordifolia*. *Phytomedicine*. 2011 Sep;18(12):1045-52.
- Singh J, Kakkar P. Antihyperglycemic and antioxidant effect of *Berberis aristata* root extract and its role in regulating carbohydrate metabolism in diabetic rats. *J Ethnopharmacol*. 2009 May;123(1):22-6.
- 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 Jun 23;4(6):e6006.
- Kannan V. Molecular mechanisms of diabetic neuropathy. *Int J Diab Dev Countries*. 2000; 20:101-3.
- Jung HA, Min BS, Yokozawa T, Lee JH, Kim YS, Choi JS. Anti-Alzheimer and antioxidant activities of *Coptidis Rhizoma* alkaloids. *Biol Pharm Bull*. 2009 Aug;32(8):1433-8.
- Shigeta K, Ootaki K, Tatemoto H, Nakanishi T, Inada A, Muto N. Potentiation of nerve growth factor-induced neurite outgrowth in PC12 cells by a *Coptidis Rhizoma* extract and protoberberine alkaloids. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2002 Nov;66(11):2491-4.
- Tuzcu M, Baydas G. Effect of melatonin and vitamin E on diabetes-induced learning and memory impairment in rats. *Eur J Pharmacol*. 2006 May 10;537(1-3):106-10.
- 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.
- 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 Aug;117(8):1091-107.
- Stewart R, Liolitsa D. Type 2 diabetes mellitus, cognitive impairment and dementia. *Diabet Med*. 1999 Feb;16(2):93-112.
- Tüma I. [Diabetes mellitus and cognitive impairments]. *Vnitr Lek*. 2007 May;53(5):486-8. [Article in Czech]
- Reagan LP. Insulin signaling effects on memory and mood. *Curr Opin Pharmacol*. 2007 Dec;7(6):633-7.

Original Paper

Effect of palmatine hydrochloride on improvement of cognitive dysfunction in streptozotocin-induced diabetic Rats

Ahouei M (BSc)*¹, Vaezi Gh (PhD)², Kalalian Moghaddam H (PhD)³, Alamalhoda F (BSc)¹

¹MSc Student in Physiology, Department of Biology, Faculty of Basic Science, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran. ²Associated Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Science, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran. ³Assistant Professor, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Shahrood University of Medical Sciences, Shahrood, Iran.

Abstract

Background and Objective: Recent studies have shown that diabetes induced cognitive dysfunction and impairs learning and memory. Palmatine is an isoquinoline alkaloid, and has multiple pharmacological effects, including anti-diabetic and antioxidant activity. This study was conducted, to evaluate the effect of Palmatine on learning and spatial memory impairment in STZ-induced diabetic rats.

Materials and Methods: This experimental study was conducted on the male Wistar rats (n=32) with approximate weight of 240±40 grams. The rats were randomly allocated and were divided into 4 groups (n=8): Control, Palmatine-treated non-diabetic, diabetic and Palmatine-treated diabetic groups. Diabetes was induced by STZ administration at the dose of 55 mg/kg through intraperitoneal route. Palmatine hydrochloride was administered subcutaneous at doses of 10 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 study. Data were analyzed by using Prism-5, one way ANOVA and Tukey tests.

Results: In spatial recognition test, the number of entrance in new arm of the Ymaze, in the Palmatine-treated groups significantly increased in compare to diabetic group in both sixth and seventh weeks (P<0.05). Number of rearing in new arm significantly increased in sixth and seventh weeks, compare to the diabetic group (P<0.05). The number of recognition novel objects in the Palmatine-treated diabetic group significantly increased in compare to diabetic group (P<0.05).

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

Keywords: Diabetes mellitus, Palmatine hydrochloride, Cognitive dysfunctions, Memory, Learning

* **Corresponding Author:** Ahouei M (MSc), E-mail: ahouee@yahoo.com

Received 19 February 2012

Revised 9 June 2012

Accepted 11 June 2012