جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقاله پژوهشی

اثر تجویز انسولین در ناحیه CA1 هیپوکامپ بر اختلالات یادگیری و حافظه فضایی در موش صحرایی دیابتی *

گلبرگ قیاسی[1و2]؛ امیر فرشچی[1و2]*؛ علی پورمتعبد[3]؛ غلامرضا بهرامی[4]؛ سید ارشاد ندایی[3]

چکیده

زمینه: دیابت قندی یکی از مهم‌ترین بیماری‌ها در جهان است. انسولین و گیرنده‌های آن در نواحی خاصی از سیستم اعصاب مرکزی یافت شده که عملکرد آن در هر ناحیه اختصاصی بوده و متفاوت از اثر مستقیم آن در تنظیم گلوکز محیطی است. توزیع انسولین و گیرنده‌های آن در هیپوکامپ و قشر مخ، مرتبط با اعمال شناختی است. مطالعات قبلی در مورد اثر انسولین بر حافظه، نتایج متناقضی در بر داشته است.

روش‌ها: هفتاد سر موش صحرایی نر نژاد NMRI (250-300 گرم) به‌طور تصادفی به گروه‌های کنترل، دیابتی، سالین-سالین، سالین-انسولین (12 یا 18 یا 24 میلی واحد) و دیابتی-انسولین (12 یا 18 یا 24 میلی واحد) تقسیم شدند. القا دیابت با تجویز استرپتوزوتوسین (65 mg/kg, ip) انجام شد. سالین یا انسولین (1 میکرولیتر) به‌صورت دوطرفه در ناحیه CA1 هیپوکامپ تجویز می‌شد. سی‌دقیقه پس از تجویز، آزمون ماز آبی موریس انجام می‌شد.

یافته‌ها: انسو لین اثر وابسته به دوز داشت. یادگیری و حافظه فضایی توسط دیابت، تخریب و با انسولین بهبود یافت. زمان لازم برای یافتن سکوی پنهان و مسافت طی‌شده برای رسیدن به آن در حیوانات تحت درمان با انسولین، کم‌تر از گروه‌های کنترل و دیابتی بود ($p<0.05$). در آزمون پروب، درصد حضور حیوانات در ربع دایره هدف با یکدیگر متفاوت بود. این اختلاف بین گروه دریافت‌کننده انسولین با سایر گروه‌ها معنادار ($p<0.05$) بود.

نتیجه‌گیری: تجویز داخل هیپوکامپی انسولین ممکن است اثرات وابسته به دوز بهبوددهنده بر روی یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرایی دیابتی داشته باشد.

کلیدواژه‌ها: انسولین، دیابت، یادگیری و حافظه فضایی، ماز آبی موریس، موش صحرایی

«دریافت: 1388/11/13 پذیرش: 1389/4/15»

1. کمیته تحقیقات دانشجویان، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه
2. گروه اقتصاد و مدیریت دارو، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
3. گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه
4. گروه فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

* **عهده‌دار مکاتبات:** تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده داروسازی، گروه اقتصاد و مدیریت دارو، تلفن: 09188563290

Email: farshchi_a@razi.tums.ac.ir

* **این مقاله برگرفته از پایان‌نامه مقطع دکترای داروسازی خانم گلبرگ قیاسی در دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه می‌باشد.**

مقدمه

دیابت ملیتوس(DM) یکی از مهم‌ترین و شایع‌ترین بیماری‌های مزمن است. حدود 250 میلیون‌نفر در سراسر جهان به این بیماری مبتلا بوده و هر سال حدود 6 میلیون گزارش جدید از آن منتشر می‌گردد (1). تغییرات پاتولوژیک ناشی از این بیماری در رگ‌های بدن، اعصاب مرکزی و محیطی و چشم‌ها روی می‌دهد. آسیب‌های ارگانیک ممکن است منجر به ایجاد فشار خون بالا، نقص کلیوی، از دست دادن بینایی، نوروپاتی محیطی و مرکزی، بیماری عروق محیطی، آنفارکتوس میوکارد و بیماری

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

عروق مغزی مانند سکته شود (2). در سال‌های اخیر مطالعات بسیاری در ارتباط با اثرات دیابت بر روی مغز انجام گرفته است. نتایج این تحقیقات حاکی از آن است که DM، منجر به نقص عملکرد شناختی و جنون می‌گردد. همانند دیابت، نقص عملکرد شناختی در جهان در حال گسترش است و شیوع آن با افزایش سن بیشتر می‌گردد (3). دیابت ملیتوس نه تنها به‌عنوان یکی از ریسک‌فاکتورهای جنون بلکه به‌عنوان یکی از عوامل ایجاد آلزایمر به‌شمار می‌رود (4). بیماران مبتلا به تیپ‌های 1 و 2 دیابت ملیتوس (T_1 DM و T_2 DM)، نقص‌های شناختی از خود نشان داده‌اند که همراه با کاهش عملکرد شناختی در مناطق مختلفی از مغز بوده است. تخریب شناختی ایجادشده توسط دیابت در دو دوره اصلی اتفاق می‌افتد: یکی در طی 7-5 سال اول زندگی، یعنی زمانی که سیستم مغزی در حال شکل‌گیری است و دیگری در سنین بالای 65 سال که مغز متحمل تغییرات تخریب‌کننده نورونی در مغز است (5). تغییرات آناتومیک مغزی در هر دو گروه بیماران مبتلا به تیپ I و تیپ II دیابت مشاهده شده است (6). این تغییرات شامل آتروفی ژنرالیزه مغزی و تغییرات در مناطق زیر قشر مغز می‌باشد (7). بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس به‌طور گسترده، تظاهرات leukoaraiosis دارند (8). leukoaraiosis نقصی است که معمولاً در اسکن مغزی بیماران بالای 80 سال مشاهده می‌شود (9). تحقیقات نشان داده است که این نقص می‌تواند به‌علت دمیلینه شدن اتفاق بیفتد (10). تصاویر رزونانس مغناطیسی (MRI) نشان داده است که افراد مبتلا به تیپ II دیابت، دارای آتروفی هیپوکامپ و آمیگدال در مقایسه با گروه کنترل بوده‌اند (11). لازم به ذکر است که مناطق هیپوکامپ و آمیگدال بر طبق تحقیقات انجام‌شده، مسئول عملکردهایی نظیر حافظه و رفتار می‌باشند (12). گیرنده‌های انسولین در نواحی مختلفی از مغز خصوصاً در هیپوکامپ پراکنده شده‌اند. این ناحیه از مغز نقش مهمی را در فعالیت‌های شناختی دارد (13). انسولین در موارد زیادی سبب افزایش فعالیت‌های شناختی در انسان، حیوان سالم، افراد مسن و بیماران مبتلا به آلزایمر و نیز در مدل‌های حیوانی مقاوم به انسولین (14) شده است. انسولین به‌عنوان یک تنظیم‌کننده مهم عملکرد هیپوکامپ عمل می‌کند. این ناحیه حاوی هر دو نوع گیرنده انسولینی و نیز گیرنده‌های گلوکز تنظیم‌کننده انسولین ($GluT_4$) است. به‌همین دلیل تغییر در عملکرد گیرنده‌های انسولینی، نقش مهمی در حافظه فضایی دارد. مطالعات نشان داده است که بلوک انتخابی گیرنده‌های انسولینی هیپوکامپ توسط پپتیدهای مشابه آنتی‌بادی، سبب کاهش حافظه می‌شود (15). مطالعات بسیاری ثابت کرده است که متابولیسم گلوکز در هیپوکامپ، وابسته به انسولین است و در انسان نیز نقش انسولین در تنظیم متابولیسم مغزی ثابت شده است. همچنین مراحل پردازش فعالیت‌های شناختی هیپوکامپ تا حدی وابسته به میزان گلوکز است (16). افزایش سطوح انسولین پلاسمایی، سبب تحریک جابجایی گیرنده‌های حساس به انسولین به غشاء پلاسمایی در هیپوکامپ موش‌ها می‌شود (17). این اطلاعات ثابت می‌کند که فعالیت سیگنال‌های گیرنده‌های انسولینی سبب افزایش فعالیت‌های شناختی و رفتاری می‌شود (18). میزان متابولیسم انسولین در بهره‌برداری از گلوکز مصرفی می‌تواند نشان‌دهنده اثرات انسولین بر آسیب‌های شناختی باشد (18).

همان‌طور که ذکر گردید، دیابت منجر به عوارض بسیار زیادی از جمله نقص عملکرد شناختی و کاهش یادگیری و حافظه می‌شود، از طرفی تزریق انسولین در ناحیه CA1 هیپوکامپ در موش‌های سالم، منجر به بهبود فرآیند یادگیری و حافظه می‌گردد. با توجه به این‌که تاکنون هیچ مطالعه‌ای مبنی بر اثرات تجویز انسولین در ناحیه CA1 هیپوکامپ در موش‌های دیابتی انجام نشده است، لذا این مطالعه به‌منظور بررسی اثرات تجویز انسولین در ناحیه CA1 هیپوکامپ براختلالات یادگیری و حافظه فضایی در موش صحرایی دیابتی انجام شده است.

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مواد و روش‌ها

در این تحقیق آزمایشگاهی استخراج‌شده از پایان‌نامه، از موش‌های نر نژاد NMRI در محدوده وزنی 250-300 گرم تهیه‌شده از مؤسسه رازی کرج استفاده شد. حیوانات در قفس‌های دوتایی با سیکل تاریکی روشنایی12 ساعته و در دمای 22-24 درجه سانتی‌گراد قرار داشتند. حیوانات باستثناء زمان آزمایش به آب و غذای کافی دسترسی داشتند. در هر سری آزمایش 7 رأس حیوان مورد استفاده قرار گرفت. برای تزریق دارو در ناحیه CA1 هیپوکامپ، کانول راهنما در داخل جمجمه حیوان قرار داده شد. به این منظور، حیوانات توسط داروی کتامین (30mg/kg) و زایلازین (2/5mg/kg) (داخل صفاقی) بیهوش می‌شدند. سپس در داخل دستگاه استریوتاکس قرار داده می‌شدند، موی سر آن‌ها چیده می‌شد و کانول‌های راهنما در فاصله 0/7 میلی‌متری بالای ناحیهCA1 هیپوکامپ با استفاده از سر سرنگ 22 بر طبق اطلس پاکسینو در مختصات: 3/8میلی‌متر پایین‌تر از برگما، 2/2± میلی‌متر از خط وسط و 2/5 میلی‌متر از سطح جمجمه قرار داده می‌شد (19).

حیوانات پس از عملیات کانول‌گذاری و طی دوره بهبودی به‌مدت 7 روز، به‌طور تصادفی در 10 گروه تقسیم شدند:

1- گروه کنترل: حیوانات این گروه بدون هیچ‌گونه عمل جراحی فقط به‌صورت داخل صفاقی (IP) تحت تجویز سالین قرار گرفتند.

2- گروه سالین- سالین: به حیوانات این گروه به‌صورت داخل صفاقی، سالین و به‌صورت دوطرفه مجموعاً در ناحیه CA1 هیپوکامپ نیز یک میکرولیتر سالین تزریق می‌شد.

3- گروه دیابتی: حیوانات این گروه به‌صورت تک‌دوز، تحت تجویز استرپتوزوتوسین (65 mg/kg, IP STZ,) قرار می‌گرفتند.

4- گروه دیابتی- سالین: به‌صورت تک‌دوز تحت تجویز استرپتوزوتوسین (65 mg/kg, IP) قرار گرفته و در دو طرف ناحیه CA1 هیپوکامپ آن‌ها مجموعاً یک میکرولیتر سالین تزریق می‌شد.

5- گروه دیابتی- انسولین 12mU: در این گروه، حیوانات به‌صورت تک‌دوز تحت تجویز استرپتوزوتوسین (65mg/kg, IP) قرار می‌گرفتند و در دو طرف ناحیه CA1 هیپوکامپ آن‌ها مجموعاً یک میکرولیتر انسولین 12mU (12 میلی‌واحد) تزریق می‌شد.

6- گروه دیابتی- انسولین 18mU: حیوانات این گروه مشابه گروه 5 تحت تجویز داروها قرار گرفتند، اما انسولین با دوز 18mU تزریق می‌شد.

7- گروه دیابتی- انسولین 24mU: در حیوانات این گروه نیز تجویز داروها مشابه گروه 5 بود اما دوز انسولین تجویزی 24mU بود.

8- گروه سالین-انسولین 12mU: این حیوانات به‌صورت داخل صفاقی، سالین و در ناحیه CA1 هیپوکامپ دوطرف، مجموعاً یک میکرولیتر انسولین 12mU دریافت می‌کردند.

9- گروه سالین- انسولین 18mU: حیوانات این گروه با توالی مطروحه در گروه 8، تحت تجویز دارو قرار می‌گرفتند. اما انسولین با دوز 18mU به آن‌ها تزریق می‌شد.

10- گروه سالین-انسولین 24mU: تجویز داروها در این گروه نیز شبیه گروه 8 بود اما انسولین را با دوز 24mU دریافت می‌کردند.

در طی روزهای آزمایش، هر روز سی‌دقیقه قبل از شروع آزمایشات در ماز آبی موریس، تزریق از طریق کانول راهنما و توسط سرنگ هامیلتون یک میکرولیتری که متصل به 15 سانتی‌متر لوله پلی‌اتیلن و کانول تزریق بود انجام می‌شد (20).

ماز آبی موریس در سال 1982 توسط موریس و همکارانش ابداع شد و به نام سازنده آن Morris water maze (MWM) نام گرفت. MWM به‌منظور بررسی توانایی یادگیری، به‌خاطرآوری و رفتن به مکانی در فضا که موقعیت آن تنها به وسیله موقعیتش در

ارتباط با علایم فضایی بیرون‌مازی تعیین می‌شود، به‌کار می‌رود **(21)**. این سیستم شامل حوضچه آبی است که سکویی مدور به قطر ده سانتی‌متر در آن قرار گرفته است. جنس سکو از پلکسی‌گلاس بوده و در شرایط آزمایشگاهی توسط حیوان غیرقابل رؤیت است. در ابتدای آزمایشات، سکو در مرکز ربع دایره شمال غربی حوضچه قرار می‌گیرد و موقعیت سکو در طول شش روز ابتدای آزمایش ثابت است. روز هفتم، آزمون پروب (probe trial) برای بررسی دقت و صحت یادگیری اولیه انجام می‌شود. در این مرحله از آزمایش، سکو از حوضچه خارج شده و حیوان طی یک بلوک (شامل 4 کارآزمایی) در آب رها می‌گردد **(22)**. نتایج با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه One-way ANOVA; variable: day برای بررسی روند یادگیری در روزهای آموزش و همچنین بررسی درصد حضور حیوانات در ربع دایره هدف در آزمون پروب و آنالیزواریانس دوطرفه (Two-way ANOVA with repeated measure; variable: experimental groups, day) برای بررسی اختلاف پارامترهای یادگیری در روزهای آموزش و در بین گروه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. در مواقعی که اختلاف معنادار بود، آزمون تعقیبی Tukey انجام گردید **(19)**. در هر مورد $P<0/05$ به‌عنوان معیار معنادار بودن اختلاف بین گروه‌های مورد آزمایش در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

داده‌ها برای تجزیه و تحلیل آماری به دو بخش تقسیم شد:

1ـ فرایند یادگیری که شامل روزهای اول تا ششم آزمایش بود.

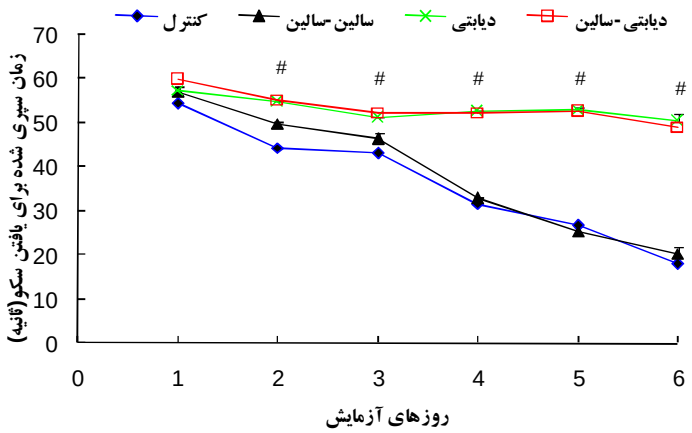
2ـ فرایند تثبیت حافظه که مربوط به درصد زمان طی‌شده در ربع دایره هدف در روز probe trial بود.

ابتدا میانگین زمان سپری‌شده برای یافتن سکو (escape latency) در روزهای آموزش در هر گروه بررسی شد. با توجه به این شاخصه، حیوانات در تمامی گروه‌های مورد مطالعه، موفق به یادگیری محل سکوی پنهان در آب شدند، به‌طوری‌که تفاوت بین روزهای اول و ششم آموزش در کلیه گروه‌های مذکور **($P<0/05$)** معنادار بود.

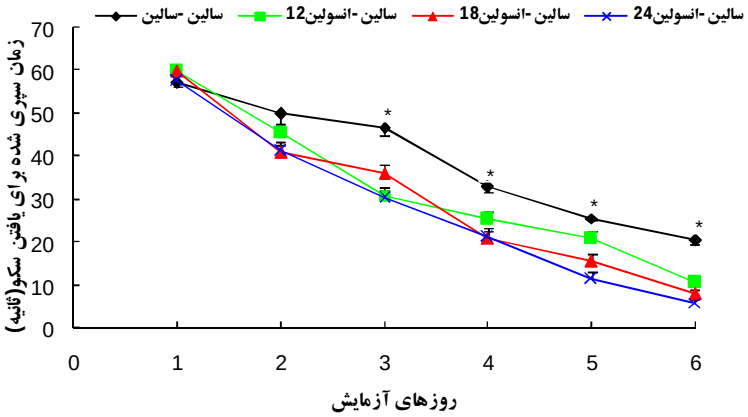
آنالیز Post hoc نشان داد این تفاوت در روزهای دوم تا ششم آموزش از یک‌طرف بین گروه‌های کنترل و دیابتی **($P<0/001$)** و از طرف دیگر بین گروه‌های سالین –سالین و دیابتی- سالین **($P<0/001$)** معنادار است. نمودار **1** نشان‌دهنده تخریب یادگیری در گروه‌های دیابتی شده است.

تفاوت میانگین زمان سپری‌شده در روزهای سوم تا ششم بین گروه‌های سالین-سالین و سالین- انسولین **12** از یک‌طرف و بین گروه‌های سالین-سالین و سالین- انسولین **18** از طرف دیگر و همچنین بین گروه‌های سالین-سالین و سالین- انسولین **24** معنادار بود **($P<0/05$)**. نمودار **2** نشان‌دهنده بهبود یادگیری در حیوانات سالم دریافت‌کننده انسولین داخل هیپوکامپی در طی روزهای آموزش است. تفاوت میانگین زمان سپری‌شده در روز های دوم تا ششم بین گروه‌های دیابتی-سالین و دیابتی-انسولین **24** و نیز بین گروه‌های دیابتی-انسولین **12** و دیابتی-انسولین **24**، همچنین بین گروه‌های دیابتی-انسولین **18** و دیابتی-انسولین **24** معنادار بود **($P<0/05$)**. نمودار **3** نشان می‌دهد که القای دیابت سبب تخریب حافظه در طی روزهای آزمایش و تزریق داخل هیپوکامپی انسولین به‌صورت وابسته به دوز، سبب بازگشت و بهبودی این تخریب شده است. در روزهای چهارم تا ششم آموزش نیز تفاوت بین گروه‌های دیابتی-انسولین **12** و دیابتی-انسولین **24** **($P<0/05$)** معنادار بود.

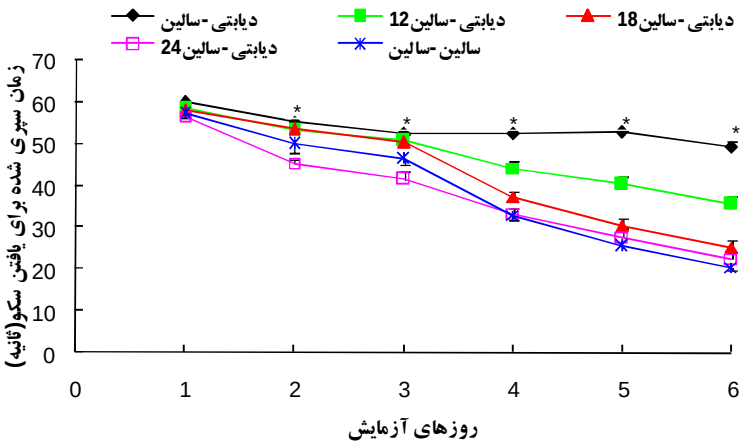
از طرف دیگر بررسی نتایج حاصل از میانگین مسافت طی‌شده برای یافتن سکو نشان داد این تفاوت در روزهای چهارم تا ششم آموزش از یک طرف بین گروه‌های کنترل و دیابتی **($P<0/001$)** و از طرف دیگر بین گروه‌های سالین-سالین و دیابتی-سالین **($P<0/001$)** معنادار بوده که نشان‌دهنده اثر تخریبی القای دیابت بر



نمودار 1 - مقایسه میانگین زمان سپری‌شده برای یافتن سکو (escape latency) طی روزهای آموزش در گروه‌های کنترل، سالین-سالین، دیابتی و دیابتی-سالین، # P<0/001 نسبت به گروه‌های کنترل و سالین-سالین.



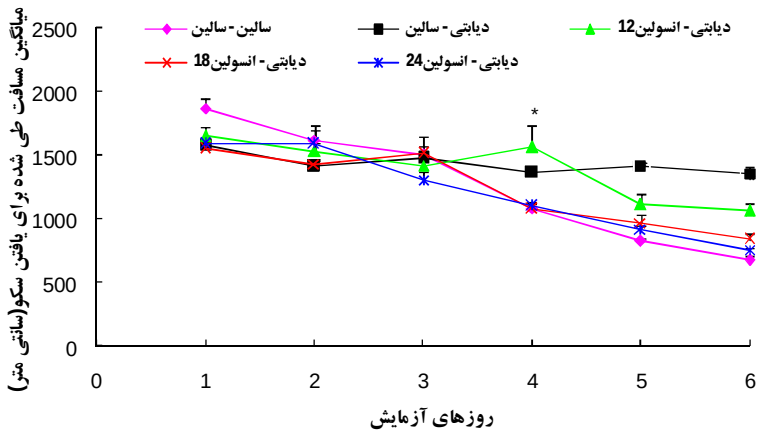
نمودار2 - مقایسه میانگین زمان سپری‌شده برای یافتن سکو (Escape latency) طی روزهای آموزش در گروه‌های سالین- سالین، سالین- انسولین 12، سالین- انسولین 18 و سالین- انسولین 24، * P<0/05 نسبت به گروه سالین- سالین.



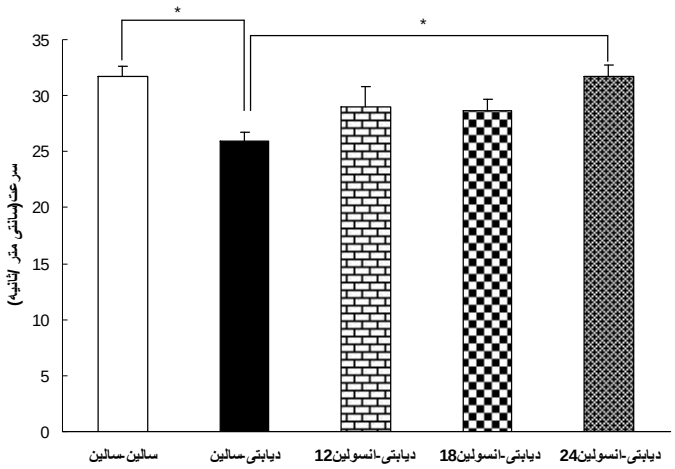
نمودار 3 - مقایسه میانگین زمان سپری‌شده برای یافتن سکو(escape latency) طی روزهای آموزش در گروه‌های سالین سالین، دیابتی-سالین، دیابتی-انسولین 12، دیابتی-انسولین18، دیابتی-انسولین24، * P<0/05 نسبت به گروه دیابتی- سالین.

این متغیر است (نمودار 4). این تفاوت در روزهای چهارم تا ششم بین گروه‌های دیابتی-سالین و دیابتی-انسولین 24، گروه‌های دیابتی-سالین و دیابتی-انسولین 18 و همچنین گروه‌های دیابتی-سالین و دیابتی-انسولین 12 (P<0/05) معنادار بود که نشان می‌دهد تزریق داخل هیپوکامپی انسولین قادر است اثرات تخریبی دیابت را به‌صورت وابسته به دوز جبران کند و بهبود بخشد (نمودار 4).

در مرحله دیگر، میانگین سرعت شنای حیوانات در هر گروه در مجموع شش‌روز آموزش با یکدیگر مقایسه شد. ابتدا میانگین سرعت شنای حیوانات بین گروه‌های کنترل، دیابتی، سالین-سالین و دیابتی-سالین بررسی شد. نتایج نشان داد که به‌طورکلی بین گروه‌های مورد مطالعه تفاوت وجود دارد. نمودار 5 نشان می‌دهد میانگین سرعت شنای حیوانات در بین گروه‌های سالین- سالین و دیابتی سالین و از طرفی بین گروه‌های دیابتی-سالین و دیابتی-انسولین 24، به‌صورت معناداری (P<0/05) تفاوت دارد.

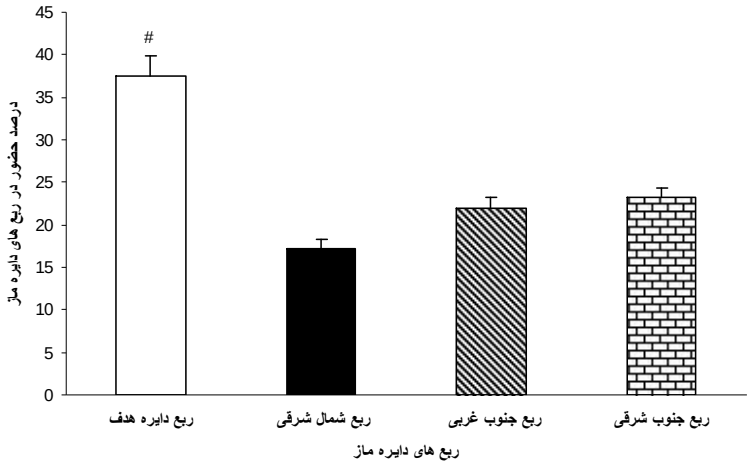


نمودار 4 - مقایسه بین میانگین مسافت طی‌شده برای یافتن سکو (distance) در روزهای آموزش در گروه‌های سالین سالین، دیابتی-سالین، دیابتی-انسولین 12، دیابتی-انسولین 18 و دیابتی-انسولین 24، * P<0/05 نسبت به گروه دیابتی- سالین.

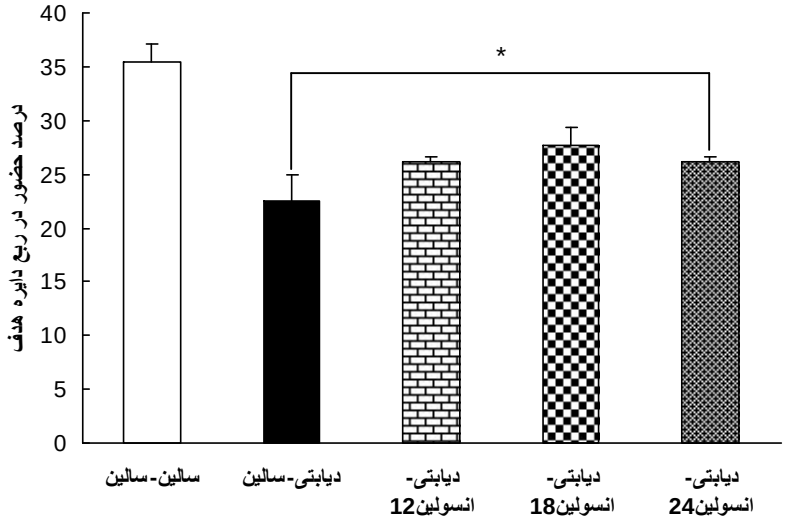


نمودار 5 - مقایسه بین میانگین سرعت شنای حیوانات در روزهای آموزش در گروه‌های سالین-سالین، دیابتی-سالین، دیابتی-انسولین 12، دیابتی-انسولین18 و دیابتی-انسولین24، * P< 0/05 نسبت به گروه دیابتی- سالین.

درصد حضور حیوانات در ربع دایره هدف (ربع دایره‌ای که در طی روزهای آموزش سکو در آن قرار داشت) در مرحله probe trial به‌عنوان شاخصه تثبیت حافظه فضایی در ماز آبی موریس مورد بررسی قرار گرفت. بدین‌منظور ابتدا در گروه کنترل، تفاوت درصد حضور حیوانات در هر چهار ربع‌دایره با یکدیگر سنجیده شد. نتایج حاکی است که به‌طورکلی این تفاوت معنادار بوده است (P=0/001) و حیوانات در ربع‌دایره هدف، بیشترین حضور را نسبت به سایر ربع‌دایره‌ها داشتند (نمودار 6). بین گروه‌های دیابتی-سالین و دیابتی-انسولین 12، دیابتی-انسولین 18 و دیابتی-انسولین 24 تفاوت آماری معنادار بود (P<0/001). این تفاوت بین گروه‌های دیابتی-سالین و دیابتی-انسولین 24 (P<0/05) نیز معنادار بود (نمودار 7).



نمودار6 - مقایسه درصد حضور حیوانات در ربع‌دایره‌های مختلف در مرحله تثبیت حافظه (probe trial) در گروه کنترل، # P<0/001 نسبت به سایر ربع‌دایره‌ها.



نمودار7 - مقایسه درصد حضور حیوانات در ربع‌دایره هدف در مرحله تثبیت حافظه (probe trial) در گروه‌های سالین-سالین، دیابتی-انسولین 12، دیابتی-انسولین 18و دیابتی-انسولین 24، * P<0/05 نسبت به گروه دیابتی- سالین.

بحث

در تحقیق حاضر نقش تزریق انسولین در ناحیه CA1 هیپوکامپ بر تخریب فرایندهای یادگیری و حافظه فضایی ناشی از دیابت در موش‌های صحرایی نر در ماز آبی موریس مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که یادگیری و حافظه فضایی توسط تجویز محیطی استرپتوزوتوسین و در نتیجه ایجاد دیابت تخریب شد. تجویز موضعی انسولین به داخل ناحیه CA1 هیپوکامپ، اختلالات مذکور را به‌صورت وابسته به دوز بهبود بخشید. همان‌گونه که عنوان شد نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که دیابت، سبب تخریب فرآیند یادگیری و حافظه می‌شود زیرا میانگین مدت‌زمان لازم برای رسیدن به سکوی پنهان (escape latency) و نیز مسافت طی‌شده برای رسیدن به آن (distance) در روزهای دوم تا ششم آموزش در گروه دیابتی در مقایسه با گروه کنترل به‌طور معناداری افزایش یافته که نشان‌دهنده عملکرد ضعیف و کاهش یادگیری در موش‌های دیابتی می‌باشد. همچنین نتایج حاکی از آن است که میزان درصد حضور حیوانات در ربع‌دایره هدف در روز هفتم (آزمون پروب) در گروه دیابتی در مقایسه با گروه کنترل کاهش معناداری داشته است که نشان‌دهنده کاهش فرآیند تثبیت حافظه در موش‌های دیابتی است. تحقیقات بسیاری مؤید کاهش یادگیری و حافظه در موش‌های دیابتی در آزمون ماز آبی موریس می‌باشد (23).

مطالعه‌ای نشان داد که نقص در اعمال شناختی در حیوانات دیابتی‌شده توسط STZ ممکن است ناشی از اثرات نوروتوکسیک هیپرگلیسمی و یا تغییرات در انتقالات عصبی گلوتامات باشد و همچنین اختلالات مغزی در قسمت‌های هیپوتالاموس، cerebral cortex و هیپوکامپ این حیوانات دیده شده است. این مطالعه کاهش گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی در هیپوکامپ را نیز در این حیوانات نشان می‌دهد (24). مطالعه دیگری نیز نشان داد که دیابت همراه با نوروپاتی مرکزی و کاهش فعالیت‌های شناختی می‌باشد (8 و 25). مطالعاتی نیز اثرات مخرب هیپرگلیسمی را بر عملکرد سیستم اعصاب مرکزی و حافظه فضایی در طولانی‌مدت نشان داده است (9 و 26). نتایج آزمایش‌هایی نیز حاکی از آن است که القای دیابت توسط STZ موجب آسیب نرون‌های هیپوکامپ و تخریب عملکرد حافظه می‌شود (27). در گزارشی تخریب حافظه ناشی از دیابت در انسان و حیوان ذکر شده است (28). یافته‌های ما نشان داد که مدت‌زمان رسیدن به سکوی پنهان و نیز مسافت طی‌شده در گروه موش‌های سالمی که تجویز داخل هیپوکامپی انسولین داشتند در مقایسه با گروه سالین-سالین کاهش معناداری داشته است. این مسأله نیز بیانگر تقویت یادگیری در موش‌های سالمی می‌باشد که تجویز داخل هیپوکامپی انسولین داشتند. چنین اثر تسهیلی انسولین به‌نظر نمی‌رسد که به‌دلیل اثرات غیراختصاصی تزریق داخل هیپوکامپی انسولین باشد، چون تزریق داخل هیپوکامپی سالین، چنین اثری را به دنبال نداشت. همچنین نتایج حاکی از آن است که درصد حضور حیوانات در ربع‌دایره هدف در روز هفتم (probe trial) در گروه‌هایی که تزریق داخل هیپوکامپی انسولین داشته‌اند در مقایسه با سایر گروه‌ها افزایش معناداری داشته است و این بیانگر تقویت حافظه در موش‌های سالمی می‌باشد که تجویز داخل هیپوکامپی انسولین داشته‌اند. در مورد منشأ حضور انسولین در مغز، دو دیدگاه مطرح است: 1) انتقال انسولین پانکراس به مغز، 2) تولید موضعی انسولین در بافت مغزی (29). انتقال انسولین محیطی از پلاسما به مایع مغزی نخاعی در چندین گونه حیوانی گزارش شده است (30). به‌نظر می‌رسد چنین انتقالی به‌واسطه یک فرآیند انتقال فعال ترانس اندوتلیال و از طریق ناقل خاصی از عرض سد خونی-مغزی صورت می‌گیرد (31). برخی مطالعات هم به سنتز موضعی انسولین در بافت مغزی اشاره کرده‌اند (32)، با این وجود منشأ انسولین موجود در مغز هنوز کاملاً مشخص نیست (33). بیان ژن گیرنده انسولین در بسیاری از نواحی مغزی از جمله پیاز

بویایی، هیپوتالاموس، قشر مغز و هیپوکامپ به اثبات رسیده است (34). گیرنده‌های انسولین موجود در مغز، ظاهراً در مقایسه با انواع محیطی خود خصوصیات متفاوتی نشان می‌دهند. به‌عنوان مثال مواجهه گیرنده‌های محیطی با غلظت‌های بالای انسولین باعث تنظیم کاهشی گیرنده‌ها شده است در صورتی‌که چنین اثری در مورد گیرنده‌های مرکزی انسولین مشاهده نمی‌شود (35). نتایج مطالعه حاضر حاکی از آن است که انسولین به‌صورت وابسته به دوز می‌تواند باعث بهبود حافظه و یادگیری فضایی در موش‌ها شود که احتمالاً به این علت است که انسولین با دوزهای بالاتر، قادر به انتقال مؤثرتر به هیپوکامپ است. تشکیلات هیپوکامپ در فرآیند تشکیل و تثبیت حافظه فضایی نقش دارد (1). ثابت شده است که سلول‌های عصبی ناحیه CA1 هیپوکامپ نسبت به انواع محرک‌های فیزیولوژیک از قبیل یادگیری و محرک‌های پاتولوژیک از قبیل ایسکمی، هیپوکسی و یا هیپرگلیسمی، حساس‌ترین سلول‌های مغزی هستند (36). همچنین نقش تسهیلی هیپوکامپ در شکل‌گیری حافظه فضایی جوندگان هم به اثبات رسیده است (37). مشخص شده است که یادگیری فضایی باعث القاء تغییرات بیوشیمیایی در بیان ژن گیرنده انسولین می‌شود (38). یادگیری فضایی در موش صحرایی منجر به تنظیم افزایشی قابل‌توجهی در میزان mRNA پروتئین گیرنده انسولین در ناحیه CA1 و شکنج دندانه‌ای هیپوکامپ می‌شود (39). به‌نظر می‌رسد که انسولین و گیرنده آن در مغز غالباً یک عملکرد تنظیم‌کننده نورونی داشته باشند. به‌عنوان مثال نقش تنظیمی انسولین در فعالیت‌های سیناپسی، هم به‌صورت پیش‌سیناپسی و هم به‌صورت پس‌سیناپسی به اثبات رسیده است (40). در بخش پیش‌سیناپسی، مشخص شده است که انسولین باز جذب نوراپی نفرین به پایانه‌های پیش‌سیناپسی را در سلول‌های جداشده مغز موش صحرایی، مهار و کینتیک کاتکول آمین‌ها را در سلول‌های هیپوتالاموس، دستخوش تغییر می‌کند (41). علاوه بر این انسولین باعث افزایش فعالیت گیرنده‌های آلفا 1- آدرنرژیک در سلول‌های هیپوکامپ موش صحرایی می‌شود (42). لذا با توجه به حضور گیرنده انسولین در سیناپتوزوم‌های هیپوکامپ، مشخص می‌شود که انسولین با اثر بر جایگاه‌های سیناپسی، باعث افزایش فعالیت آن‌ها شده و به این ترتیب فعالیت نورون‌های آن را افزایش می‌دهد (43). همچنین ثابت شده است که انسولین با اثر بر مغز می‌تواند باعث افزایش سطح نوراپی نفرین شده و از این طریق توجه و تمرکز را که به واسطه فعالیت سیستم نورآدرنرژیک در قشر پره‌فرونتال شکل می‌گیرد، افزایش دهد (44).

همچنین در گزارشی آمده است که تزریق داخل بطنی انسولین در موش‌های صحرایی موجب افزایش چشم‌گیری در غلظت استیل کولین و سروتونین پایانه‌های پیش‌سیناپسی می‌شود درصورتی‌که غلظت دوپامین را کاهش می‌دهد (45). این در حالیست که سیستم عصبی کولینرژیک در پردازش و شکل‌گیری حافظه، نقش اساسی دارد (45). همچنین یکی از خصوصیات پاتولوژیک اصلی در بیماران آلزایمر، کاهش چشم‌گیر در حجم و فعالیت نورون‌های کولینرژیک در ناحیه مغز قدامی است (46). انسولین در بخش پس‌سیناپسی بر روی گیرنده‌های NMDA گلوتامات اثر می‌کند و به این ترتیب باعث القای تقویت طولانی‌مدت (Long Term Potentiation) در هیپوکامپ می‌شود (47). نتایج حاصل از یک مطالعه نشان داد که انسولین می‌تواند کمی بعد از مواجهه با قطعات جداشده هیپوکامپ، فعالیت گیرنده‌های NMDA را در سلول‌های آن افزایش دهد. چنین اثر تسهیل‌کننده انسولین، ظاهراً به واسطه فسفریلاسیون هر دو زیرواحد (NR2B و NR2A) گیرنده NMDA می‌باشد (48). همچنین انسولین باعث تنظیم جریان خروجی گیرنده‌های NMDA در اووسیت‌ها و نیز سلول‌های هیپوکامپ قورباغه می‌شود (49). در مطالعات دیگری نیز ثابت شده است که انسولین قادر است فعالیت گیرنده‌های NMDA را به واسطه تجمع (Recruitment) آن‌ها در سطح سلول افزایش دهد (50). چنین اثر تقویتی انسولین

بر LTP به‌واسطه گیرنده‌های NMDA به‌وسیله مهارکننده‌های تیروزین پروتئین کیناز از قبیل Genistein یا Staurosporine بلوک می‌شود. لذا این نتایج حاکی از آن است که فسفریلاسیون تیروزین و آبشارهای مولکولی سرین/تره اونین پروتئین کینازها مانند پروتئین کیناز C در عملکرد انسولین در این زمینه نقش دارند. همان‌طور که ذکر شد، دیابت سبب کاهش شکل‌پذیری سیناپسی و کاهش گیرنده‌های NMDA در غشا می‌شود. از طرفی تجویز دوزهای بالای انسولین به داخل هیپوکامپ با اثر مستقیم بر گیرنده‌های NMDA موجب افزایش عملکرد آن‌ها و بهبود حافظه در موش‌های سالم تحت تجویز داخل هیپوکامپی انسولین می‌گردد **(51)**. لذا بهبود فرآیند یادگیری و حافظه در موش‌های دیابتی توسط تجویز داخل هیپوکامپی انسولین می‌تواند به‌دلیل افزایش عملکرد گیرنده‌های NMDA در این حیوانات باشد.

در مطالعه حاضر میانگین سرعت شنای حیوانات در گروه‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. بدیهی است چنان‌چه دستکاری‌های فیزیولوژیک و فارماکولوژیک در گروه‌های مختلف منجر به کاهش سرعت شنا شود، می‌تواند بر استنباط منطقی از اطلاعات حاصل از دو شاخصه میانگین زمان و مسافت طی‌شده برای رسیدن به سکو مؤثر باشد، زیرا کاهش سرعت شنا زمان رسیدن به سکو را افزایش می‌دهد. اما با توجه به این‌که در کلیه موارد، دو شاخصه مذکور هم‌راستای یکدیگر عمل نموده‌اند لذا به نظر می‌رسد کاهش سرعت شنا به‌حدی نیست که بر روی زمان لازم برای رسیدن به سکو مؤثر باشد. بنابراین هر دو شاخصه مذکور به‌عنوان معیاری برای بررسی یادگیری فضایی، دارای ارزش و اعتبار می‌باشد **(19)**.

از سوی دیگر نتایج نشان داد که میانگین سرعت شنا در موش‌های دیابتی در مقایسه با گروه کنترل و همچنین در گروه دیابتی– سالین در مقایسه با گروه سالین-سالین، کاهش معناداری داشته است. با توجه به هم‌راستا بودن نتایج، مدت‌زمان رسیدن به سکوی پنهان و مسافت طی‌شده برای رسیدن به سکوی پنهان و افزایش این شاخصه‌ها در موش‌های دیابتی، می‌توان انتظار داشت که کاهش سرعت در گروه‌های دیابتی، ناشی از کاهش توده عضلات و ضعف عضلانی در موش‌های این گروه باشد **(52)**. همچنین میانگین سرعت شنا در موش‌های سالمی که انسولین داخل هیپوکامپی دریافت کردند نسبت به گروه کنترل، کاهش معناداری داشت که قابل توجیه نمی‌باشد.

نتیجه‌گیری

در مجموع، نتایج این تحقیق نشان‌دهنده آن است که تجویز داخل هیپوکامپی انسولین به‌صورت وابسته به دوز، سبب بهبود حافظه و یادگیری فضایی مرتبط با ناحیه CA1 هیپوکامپ در موش‌های صحرایی دیابتی می‌شود.

References

1. Thomas VS, Darvesh S, MacKnight C, Rockwood K. Estimating the prevalence of dementia in elderly people: a comparison of the Canadian Study of Health and Aging and National Population Health Survey approaches. Int Psychogeriatr 2001;13 supp 1: 169–75.
2. Ott A, Stolk RP, van Harskamp F, Pols HA, Hofman A, Breteler MM. Diabetes mellitus and the risk of dementia: the Rotterdam Study. Neurology 1999; 53(9): 1937–42.
3. Biessels GJ, Deary IJ, Ryan CM. Cognition and diabetes: a lifespan perspective. Lancet Neurol 2008; 7(2): 184-90.
4. Luchsinger JA, Tang MX, Stern Y, Shea S, Mayeux R. Diabetes mellitus and risk of Alzheimer's disease and dementia with stroke in a multiethnic cohort. Am J Epidemiol 2001; 154(7): 635–41.
5. Peila R, Rodriguez BL, Launer LJ. Type 2 diabetes, APOE gene, and the risk for dementia and related pathologies: the Honolulu-Asia aging study. Diabetes 2002; 51(4): 1256–62.

6. MacKnight C, Rockwood K, Awalt E, McDowell I. Diabetes mellitus and the risk of dementia, Alzheimer's disease and vascular cognitive impairment in the Canadian study of health and aging. Dement Geriatr Cogn Disord 2002; 14(2): 77–83.
7. Arvanitakis Z, Wilson RS, Bienias JL, Evans DA, Bennett DA. Diabetes mellitus and risk of Alzheimer disease and decline in cognitive function. Arch Neurol 2004; 61(5): 661–6.
8. Dejgaard A, Gade A, Larsson H, Balle V, Parving A, Parving HH. Evidence for diabetic encephalopathy. Diabet Med 1991; 8(2): 162–7.
9. Akisaki T, Sakurai T, Takata T, Umegaki H, Araki A, Mizuno S, et al. Cognitive dysfunction associates with white matter hyperintensities and subcortical atrophy on magnetic resonance imaging of the elderly diabetes mellitus Japanese elderly diabetes intervention trial (JEDIT). Diabetes Metab Res Rev 2006; 22(5): 376–84.
10. Gispen WH, Biessels GJ. Cognition and synaptic plasticity in diabetes mellitus. Trends Neurosci 2000; 23(11): 542–9.
11. Watson GS, Craft S. Modulation of memory by insulin and glucose: neuropsychological observation in Alzheimer's disease. Eur J Pharmacol 2004; 490(1-3): 97–113.
12. Lazarus R, Prettyman R, Cherryman G. White matter lesions on magnetic resonance imaging and their relationship with vascular risk factors in memory clinic attenders. Int J Geriatr Psychiatry 2005; 20(3): 274–9.
13. Marks JL, Porte DJ, Stahl WL, Baskin DG. Localization of insulin receptor mRNA in rat brain by in situ hybridization. Endocrinology 1991; 127(6): 3234-6.
14. Dore´ S, Kar S, Rowe W, Quirion R. Distribution and levels of 125I.IGF-I, 125I.IGF-II and 125I.Insulin receptor binding sites in the hippocampus of aged memory-unimpaired and –impaired rats. Neuroscience 1997; 80(4):1033-40.
15. Park CR. Cognitive effects of insulin in the central nervous system. Neurosci Biobehav Rev 2001; 25(4):311-23.
16. Kopf SR, Baratti CM. Memory-improving actions of glucose: involvement of a central cholinergic muscarinic mechanism. Behav Neur Biol 1994; 62(3):237-43.
17. Parkes M, White KG. Glucose attenuation of memory impairments. Behav Neurosci 2000; 114(2):307-19.
18. Park CR, Seely RJ, Craft S, Woods SC. Intracerebroventricular insulin enhances memory in a passive-avoidance task. Physiol Behav 2000; 68(4):509-14.
19. Farshchi A, Ghiasi G, Farshchi S, Malek Khatabi P. Effects of Boswellia Papyrifera gum extract on learning and memory in mice and rats. Iran J Basic Med Sci 2010; 13(2): 9-15
20. Brandeis R, Brandys Y, Yehuda S. the use of Morris water maze in the study of memory and learning. Intern J Neurosci 1989; 48(1-2): 29-69.
21. McNamara RK, Skelton RW. The neuropharmacological and neurochemical basis of place learning in the Morris water maze. Brain Res Rev 1993; 18(1): 33-49.
22. Bear MF, Connors BW, Paradiso MA. Neuroscience (Exploring the brain), 2nd ed. Marylan: Lippincott Williams & Wilkins, 2001:738- 807.
23. Cole AR, Astellb A, Greena C, Sutherland C. Molecular connexions between dementia and diabetes. Neurosci Biobehav Rev 2007; 31(7): 1046–63.
24. Huerta PT, Sun LD, Wilson MA, Tonegawa S. Formation of temporal memory requires NMDA receptors within CA1 pyramidal neurons. Neuron 2000; 25(2): 473–80.
25. Messier C, Gagnon M. Glucose regulation and cognitive functions: relation to Alzheimer’s disease and diabetes. Behav Brain Res 1996; 75(1-2): 1-11.
26. Vlassara H. Recent progress in advanced glycation end products and diabetic complications. Diabetes 1997; 46 Suppl 2:S19-25.
27. Biessels GJ, Kappelle AC, Bravenboer B, Erkelens DW, Gispen WH. Cerebral function in diabetes mellitus. Diabetologia 1994; 37(7): 643–50.
28. den Heijer T, Vermeer SE, van Dijk EJ, Prins ND, Koudstaal PJ, Hofman A, Breteler MM. Type 2 diabetes and atrophy of medial temporal lobe structures on brain MRI. Diabetologia 2003; 46(12): 1604–10.
29. Withers DJ, White M. Perspective: the insulin signaling system a common link in the pathogenesis of type 2 diabetes. Endocrinology 2000; 141(6): 1917–21.
30. Zhao WQ, Chen H, Quon MJ, Alkon DL. Insulin and the models of learning and memory. Eur J Pharmacol 2004; 490(1-3): 71–81.
31. Saltiel AR, Kahn CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. Nature 2001; 414(6865): 799–806.
32. Alessi DR, Cohen P. Mechanism of activation and function of protein kinase B. Curr Opin Genet Dev 1998; 8(1): 55–62.
33. Biessels GJ, Van der Heide LP, Kamal A, Bleys RL, Gispen WH. Ageing and diabetes: implications for brain function. Eur J Pharmacol 2002; 441(1-2): 1–14.

34. de la Monte SM, Wands JR. Review of insulin and insulin-like growth factor expression, signaling, and malfunction in the central nervous system: relevance to Alzheimer's disease. J Alzheimers Dis 2005; 7(1): 45–61.
35. Gasparini L, Xu H. Potential roles of insulin and IGF-1 in Alzheimer's disease. Trends Neurosci 2003; 26(8): 404–6.
36. Frank LM, Stanley GB, Brown EN. Hippocampal plasticity across multiple days of exposure to novel environment. J Neurosci 2004; 24(35): 7681-9.
37. Englund M, Bjurling M, Edin F, Hyllienmark L, Brismar T. Hypoxic excitability changes and sodium currents in hippocampal CA1 neurons. Cell Mol Neurobio 2004; 24(5):685-94.
38. Craft S, Watson GS. Insulin and neurodegenerative disease: shared and specific mechanisms. Lancet Neurol 2004; 3(3): 169–78.
39. Smith MA, Sayre LM, Monnier VM, Perry G. Radical AGEing in Alzheimer's disease. Trends Neurosci 1995; 18(4): 172–6.
40. Gasparini L, Xu H. Potential roles of insulin and IGF-1 in Alzheimer's disease. Trends Neurosci 2003; 26(4): 404–6.
41. Craft S, Peskind E, Schwartz MW, Schellenberg GD, Raskind M, Porte D. Cerebrospinal fluid and plasma insulin levels in Alzheimer's disease: relationship to severity of dementia and apolipoprotein E genotype. Neurology 1998; 50(1): 164–8.
42. Craft S, Asthana S, Cook DG, Baker LD, Cherrier M, Purganan K, et al. Insulin dose-response effects on memory and plasma amyloid precursor protein in Alzheimer's disease: interactions with apolipoprotein E genotype. Psychoneuroendocrinology 2003; 28(6): 809–22.
43. Fr?lich L, Blum-Degen D, Bernstein HG, Engelsberger S, Humrich J, Laufer S, et al. Brain insulin and insulin receptors in aging and sporadic Alzheimer's disease. J Neural Transm 1998; 105(4-5): 423–38.
44. Caccamo A, Oddo S, Sugarman MC, Akbari Y, LaFerla FM. Age- and regiondependent alterations in Abeta degrading enzymes: implications for disorders. Neurobiol Aging 2005; 26(5): 645–54.
45. Bernstein HG, Schwarzberg H, Reiser M, Gunther O, Dorn A.Intracerebroventricular infusion of insulin alters the behavior of rats not related to food intake. Endocrinol Exp 1986; 20(4): 387–92.
46. Hoyer S. Glucose metabolism and insulin receptor signal transduction in Alzheimer disease. Eur J Pharmacol 2004; 490(1-3):115-25.
47. McNay EC, Fries TM, Gold PE. Decreases in rat extracellular hippocampal glucose concentration associated with cognitive demand during a spatial task. Proc Natl Acad Sci USA 2000; 97(6): 2881-5.
48. McEwen BS, Reagan LP. Glucose transporter expression in the central nervous system: relationship to synaptic function. Eur J Pharmacol 2004; 490(1-3): 13-24.
49. Babri S, Badie HG, Khamenei S, Seyedlar MO. Intrahippocampal insulin improves memory in a passive-avoidance task in male wistar rats. Brain Cogn 2007; 64(1): 86-91.
50. Watson GS, Craft S. Modulation of memory by insulin and glucose: neuropsychological observations in Alzheimer’s disease. Eur J Pharmacol 2004; 490(1-3):97-113.
51. Van der Heide LP, Kamal A, Artola A, Gispen WH, Ramakers GM. Insulin modulates hippocampal activity-dependent synaptic plasticity in a N-methyl-D-aspartate receptor andm phosphatidyl-inositol-3-kinase-dependent manner. J Neurochem 2005; 94(4):1158-66.
52. Welsh B, Wecker L. Effects of streptozotocin-induced diabetes on acetylcholine metabolism in rat brain. Neurochem Res 1991; 16(4): 453-60.