مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره شانزدهم، شمارهٔ ۶، خرداد ۱۳۹۳، صفحه ۴۲-۳۳

اثر بربرین کلراید بر تقویت طولانی مدت(LTP) درشکنج دندانه دار موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

حمید کلالیان مقدم(PhD)[1*]، توراندخت بلوچ نژادمجرد(PhD)[2]، مهرداد روغنی(PhD)[3]، مهدی خاکساری(PhD)[1]،

عبدالعزیز رونقی (MSc)[4]، مهناز مصری‌پور علویجه(MSc)[5]

۱- گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود
۲- گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۳- مرکز تحقیقات فیزیولوژی اعصاب، دانشگاه شاهد
۴- گروه فیزیولوژی دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۵- گروه فیزیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان

دریافت: ۹۲/۳/۳۱، اصلاح: ۹۲/۶/۳۱، پذیرش: ۹۲/۱۰/۱۵

خلاصه

سابقه و هدف: بربرین، آلکالوئیدی ایزوکوئینولین می‌باشد که در مطالعات اخیر آثار ضددیابتی و آنتی‌اکسیدانی آن گزارش شده است. هدف از این مطالعه بررسی اثـر تجـویز بربرین بر شکل‌پذیری سیناپسی در ناحیه شکنج دندانه‌دار موش‌های صحرایی دیابتی‌شده با استرپتوزوتوسین می باشد.

مواد و روشها: در این مطالعه ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار بطور تصادفی به پنج گروه: کنترل، کنترل تیمار شده با بربرین (۱۰۰mg/kg)، دیـابتی و دیـابتی تیمـار شده با بربرین (۱۰۰mg/kgو۵۰) تقسیم شدند. دیابت با تزریق استرپتوزوتوسین بـا دوز ۵۵mg/kg، بـه‌صـورت درون صـفاقی القـاء گردیـد. یـک هفتـه پـس از تزریـق استرپتوزوتوسین، تیمار بربرین با دوز ۱۰۰mg/kg/day و۵۰ به‌مدت هفت هفته به‌صورت خوراکی انجام گردید. قندخون در هفته‌های ۵،۳،۱ و۷ پس از تزریـق STZ بـا خون‌گیری از سیاهرگ دمی اندازه‌گیری شد. آزمون ماز Y به منظور بررسی اثر بربرین بر اختلال حافظه‌ای و یادگیری ناشی از دیابت اسـتفاده گردیـد. جهـت ارزیـابی اثـر بربرین بر شکل‌پذیری‌سیناپسی، پتانسیل‌درازمدت (LTP) در سیناپس‌های مسیر پرفورنت-شکنج‌دندانه‌ای ضمن القاء تحریک الکتریکی با فرکانس۲۰۰هرتز در موش‌های-صحرایی ثبت‌گردیده و دامنه پتانسیل پس‌سیناپسی تحریکی (fEPSP) و نیز نقطه اوج دامنه (PS)، با نرم‌افزارهای مربوطه آنالیز گردید.

یافته ها: افزایش قندخون و کاهش وزن نمونه‌ها و حافظه فضایی کوتاه‌مدت در نمونه‌های دیابتی تحت درمان با بربرین، بهبود یافت (P<۰/۰۱). دامنه PSLTP در گروه دیابتی (۱۲±۱۱۲) در مقایسه با کنترل (۱۴±۱۹۲) به‌طور معنی‌داری کاهش و در گروه دیابتی تحت درمان با بربرین (۱۰۰mg/kg) (۱۰±۱۹۲) در مقایسه با کنترل دیابتی (۱۲±۱۱۲) به‌طور معنی‌داری افزایش‌یافت (P<۰/۰۵). هم‌چنین شیب fEPSP LTP در گروه دیابتی (۶±۱۲۱) در مقایسه با کنترل (۱۱±۱۶۷) به‌طور معنی‌داری کاهش و در گروه دیابتی تحت‌درمان با بربرین (۱۰۰mg/kg) (۳±۱۴۷) در مقایسه با کنترل دیابتی (۶±۱۵۲) به‌طور معنی‌داری افزایش‌یافت (P<۰/۰۵).

نتیجه گیری: مطالعه حاضر نشان داد که درمان با بربرین در روندی وابسته به دوز اختلال شناختی و الکتروفیزیولوژیکی را در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین بهبود می‌بخشد.

واژه های کلیدی: بربرین، دیابت، شکنج‌دندانه‌دار، یادگیری و حافظه، شکل‌پذیری سیناپسی.

مقدمه

دیابت ملیتوس (DM) به شدت با اختلال های دژنراتیو و عملکرد سیستم عصبی مرکزی همراه است (۱). شواهد نشان داده که پس از القای دیابت به تدریج اختلال در عملکرد شناختی و شکل‌پذیری سیناپسی در ناحیه شکنج دندانه دار هیپوکامپ ایجاد گردیده با مکانیسم های متعددی، آسیب‌های مغزی ایجاد می‌کند (۵-۲). نتایج مشابهی نیز نشان داده اند که القاء دیابت با استرپتوزوتوسین، منجر به تغییر ساختار پایانه‌های سیناپسی در ناحیه هیپوکامپ می‌شود از جمله: کاهش بازآرایی وزیکول‌های سیناپسی (۶)، تخلیه وزیکول‌های سیناپسی و کاهش تعداد دندریت نورون‌های رأسی ناحیه هیپوکامپ را می توان نام برد (۷و۸) با این حال تاکنون، هیچ درمان مشخصی برای کنترل و یا پیشگیری از نوروپاتی دیابتی و اختلال های شناختی متعاقب آن در دسترس نمی‌باشد (۹). بربرین آلکالوئیدی

* مسئول مقاله: دکتر حمید کلالیان مقدم
آدرس: شاهرود، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی، تلفن: ۰۲۷۳-۳۳۹۵۰۵۴
e-mail: h.kalalian@gmail.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.16.6.4.4]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.6.33]

ایزوکوئینولین است که از آن آثار ضد اضطرابی، ضد دردی، ضد التهابی، ضد افسردگی و ضد فراموشی گزارش شده است (۱۲-۱۰) در این راستا طی مطالعات بالینی و پیش بالینی در دیابت، آثار مفیدی از بربرین مشاهده شده است (۱۶-۱۳) به نظر می‌رسد این دارو موجب افزایش بیان انسولین، بازسازی سلول‌های β و افزایش پتانسیل آنتی اکسیدان سلول‌ها می‌شود (۲۰-۱۷).

هم‌چنین گزارش شده که بربرین با مهار آنزیم استیل کولین استراز نقش مهمی در درمان الزایمر و فراموشی دارد که با افزایش فعالیت‌های کولینرژیک سیستم عصبی مرکزی مرتبط می‌باشد. گزارش‌های دیگری نشان داده که بربرین نقش مفیدی نیز بر سلامت و عملکرد سیستم عصبی و محافظت از نورون‌های مغزی در برابر عوامل تهاجمی ایفا می‌کند (۲۳-۲۱). مطالعات اخیر نشان داده‌اند که بربرین با افزایش بیوسنتز و انتشار (Glucagon-like peptide-1, GLP-1) می‌تواند نقش مهمی در درمان نوروپاتی‌های ناشی از دیابت ایفا کند (۲۴). مطالعات قبلی نشان داده که در سطح پایه، عملکرد فیزیولوژیکی سیستم عصبی را می‌توان با استفاده از ثبت پتانسیل‌های میدانی (f-EPSPs)، که میانگین پاسخ پس سیناپسی تعدادی از نورون‌هاست، ارزیابی کرد (۲۶و۲۵). با این وجود، حتی بافت‌هایی که دارای EPSPf- قوی می‌باشند، ممکن است در عملکردهای فیزیولوژیکی پیچیده‌تر، مانند ایجاد LTP ناتوان باشند، لذا در مجموع با توجه به نتایج به دست آمده در این آزمایش و آزمایش‌های مشابه به نظر می‌رسد برخلاف LTP، اندازه‌گیری شیب EPSPf شاخص حساسی جهت ارزیابی اختلال های سیناپسی ناشی از نوروپاتی دیابتی نیست (۲۷و۴).

لذا با توجه به تمامی شواهد، در این پژوهش اثر تجویز خوراکی مزمن بربرین بر بهبود حافظه فضایی و اختلال های ایجاد شده در شکل‌پذیری سیناپسی در مدل تجربی دیابت القاء شده با استرپتوزوتوسین در موش صحرایی مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روشها

جهت انجام این مطالعه تجربی از ۴۰ سر موش صحرایی نر، نژاد ویستار (انستیتو پاستور، تهران، ایران) و وزن ۲۲۵ تا ۲۸۵ گرم استفاده گردید. نمونه‌ها به منظور انطباق با محیط، از یک هفته قبل از شروع آزمایش، در محیط آزمایشگاه با دمای ۲ ±۲۲ درجه سانتیگرادو رطوبت۴۰-۳۰٪ و چرخه روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته قرار گرفته و به‌طور آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. قابل ذکر است که نکات اخلاقی در رابطه با نگهداری و کار با حیوانات آزمایشگاهی در تمام مدت کار رعایت گردید.

موش‌های صحرایی به‌طور تصادفی به پنج گروه ۱۰ تایی: کنترل، کنترل تیمار شده با بربرین‌هیدروکلراید (۱۰۰ mg/kg)، دیابتی، دیابتی تیمار شده با بربرین هیدروکلراید (۵۰mg/kg و۱۰۰) دسته بندی شدند. داروهای به‌کار رفته در این آزمایش نیز شامل: بربرین‌هیدروکلراید و استرپتوزوتوسین بودند، که همگی از شرکت سیگما خریداری شدند. القای دیابت با تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین (ip. ۵۵ mg/kg) حل شده در بافرسدیم سیترات ۰/۰۵M و pH= ۴/۴) انجام شد. به منظور کاهش مرگ و میر ناشی از شوک قند خون، در موش‌های صحرایی پس از تزریق STZ، ۲۴ ساعت از محلول گلوکز ۵٪ به جای آب استفاده شد. ۷۲ساعت بعد از تزریق STZ، سنجش قند خون از طریق خون-گیری از سیاهرگ دمی انجام شد. به گروه های کنترل، معادل حجم دارو، نرمال سالین تزریق گردید. یک هفته پس از تزریق STZ، نمونه خون ناشتا پس از یک شب گرفته و غلظت گلوکز سرم با استفاده از روش اکسیداسیون گلوکز (زیست شیمی، تهران) اندازه‌گیری شد. فقط حیواناتی با میزان قند سرمی ناشتا بالاتر از ۲۵۰ mg/dl، به عنوان دیابتی برای آزمایش انتخاب شدند (۲۴). روزی که قند خون تأیید گردید، به عنوان روز صفر تعیین شد. یک هفته بعد از تزریق STZ، بربرین هیدرو کلرید به صورت گاواژ با دوز ۱۰۰ mg/kg/day و ۵۰ برای یک دوره ۷ هفته‌ای تجویز شد. آزمون‌های رفتاری از جمله ماز Y در پایان مطالعه به شرح زیر انجام شد. وزن و قند گروه‌ها هر دو هفته یک بار اندازه‌گیری شد.

بررسی حافظه فضایی با استفاده از ماز Y: پس از پایان ۸ هفته دریافت دارو یا تحمل شرایط دیابت بدون دریافت دارو حافظه فضایی نمونه ها با استفاده از ماز Y مورد سنجش قرار گرفت. جنس ماز Y از پلکسی گلاس سیاه رنگ بود. طول و عرض و ارتفاع هر بازوی مازy، به ترتیب ۴۰ در ۱۵ در۳۰ سانتی‌متر بود. هر سه بازو در مرکز یک صفحه مثلثی شکلمتساوی الاضلاع با ابعاد ۱۵ سانتی‌متری، همگرا شده بودند. هر موش، درانتهای یک بازو قرار داده 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 آن ها وارد شده بود، بدون احتساب بازوی شروع در توالی‌های سه تایی بدون تکرار دسته‌بندی گردید. تعداد تناوب واقعی منظور ورود به سه بازوی متوالی تحت عنوان مجموعه سه گانه و تعداد تناوب حداکثر یا احتمالی از رابطه (۲- تعداد کل بازوهای ورودی) و در نهایت نیز درصد تناوب از رابطه نسبت واقعی تناوب به نسبت تناوب حداکثر یا همان (۲- تعداد کل بازو ورودی) محاسبه شده است.

آزمایشهای الکتروفیزیولوژیک: پس از ۸ هفته از القاء دیابت و درمان با بربرین، موش‌ها با اورتان (۱/۵ g/kg) بیهوش شده و سر حیوان را در دستگاه استریوتاکس ثابت کرده و مطابق با اطلس پاکسینوس نواحی مربوط به جایگاه الکترودهای تحریکی و ثبات علامت گذاری شدند. درجه حرارت مقعدی ثبت گردیده و با بالشتکی برقی به طور خودکار حرارت بدن حیوانات در سطح ۳۷±۰/۵ C° حفظ گردید. الکترودهای تحریکی و ثبات، دو قطبی از جنس فولاد ضد زنگ (با قطر ۱۲۵ میکرومتر) با پوشش تفلونی در یک نیمکره مغز قرار داده شدند. الکترود مرجع یا غیر فعال که در ناحیه پوست سر قرار گرفته و الکترود ثبات به دستگاه میکروالکترود آمپلی فایر و الکترود تحریکی به سیستم تحریک کننده متصل شد. الکترود تحریکی در مسیر پرفورانت با مختصات دورا: (V = 3- 3.3 mm, L= 4.3 mm, AP= -8.1 mm)والکترود ثبات در محل شکنج دندانه‌دار هیپوکامپا مختصات دورا: (V = 2.7-3.2 mm, L = 2.4 mm, AP = -3.8 mm) در لایه سلول‌هایگرانوله قرار داده شد. با تحریک مسیر پرفورانت، پتانسیل‌های میدانی (Field Potential) از محل شکنج دندانه‌دار ثبت گردید (۲۸). برای تحریک آزمون (TS) موج‌های مربعی تک فاز، با پهنای ۰/۲ میلی ثانیهبه مسیر پرفورانت جهت برانگیختن پتانسیل میدانی در ناحیه شکنج دندانه‌دار، به صورت ۱۰ تحریک با فاصله زمانی۱۰ ثانیه (فرکانس ۰/۱ هرتز) ا در هر بار ثبت، اعمال شد. بعد از تعیین حداکثر دامنه پتانسیل میدانی، شدتی که در آن اندازه دامنه معادل ۴۰٪ دامنه حداکثر بود برایثبت TSرویت شده و به طور جداگانه، بر اساس رابطه I/O (Input Output Curve) محاسبه شد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.16.6.4.4]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.6.33]

در مطالعه تحریک زوج(Paired Pulse) هر تحریک شامل دو موج مربعی تک فاز با فواصل تحریکی۱۰،۲۰،۳۰ و۵۰ میلی ثانیه در نظر گرفته شد (شکل۳). پهنای هر موج مربعی، ۰/۲ میلی ثانیه و فرکانس تحریک۰/۱ هرتز بود (۱۰ تحریک با فاصله ۱۰ ثانیه). شدت جریان تحریک زوج برای هر حیوان معادل همان شدت جریان تحریک آزمون بود. جهت محاسبه درصد شاخص تحریک زوج (PPI:Paired Pulse Index) از رابطه(PPI = PS2/PS1×100) استفاده شد که

۱۰۰× (دامنه پتانسیل تجمعی (PS) موج اول/ تقسیم بر دامنه PS موج دوم)= شاخص تحریک زوج

در تحریک کزازی (High Frequency Stimulus, HFS) جهت القای LTP از الگوی تحریک ۲۰۰ هرتزاستفاده شد و ۱۰ قطار تحریک با فواصل ۱۰ ثانیه به مسیر پرفورانت اعمال گردید. هر یک از قطارها، در برگیرنده ۱۵ موج تحریک با پهنای ۰/۲ میلی ثانیه و فرکانس ۲۰۰ هرتز بود. شدت تحریک استفاده شده، جهت القای LTP، معادل ۸۰ درصد شدت حداکثر بود که بر اساس رابطه I/O بدست می آمد. در نظر گرفته شد.

معیار القایLTP در مطالعات مختلف تا حدی متفاوت بیان شده است. معیار در این مطالعه برای القاء LTP شامل افزایش ۱۰٪ در شیب EPSP و افزایش ۲۵٪ در دامنه PS بود (۲۹). توان پتانسیل برانگیخته میدانی با کمک شیب EPSP و دامنه پتانسیل تجمعی (PS) ارزیابی شد. با تحریک مسیر پرفورانت، پتانسیلهای برانگیخته میدانی از ناحیه شکنج دندانه ای ثبت گردید. در این مطالعه، در شروع آزمایش، مسیر پرفورانت با تک موجهای مربعی تک فاز با پهنای ۰/۲ میلی ثانیه و با فواصل ۱۰ ثانیه تحریک می شدند. دستور تحریک بعد از تعریف در برنامه نرم افزاری، به قسمت Data Acquisition ارسال و بعد از گذشتن از ایزولاتور، توسط الکترود دو قطبی به مسیر پرفورانت اعمال می گردید (شکل۵-۳). برای رسیدن به ثبت مطلوب و پایدار از ناحیه شکنج دندانه ای، گاهی ضرورت داشت جای الکترود تحریکی و ثبات چندین بار عوض شود تا بهترین نقاط تحریک و ثبت حاصل گردد. برای به حداقل رساندن تروما به بافت مغز، الکترودها با سرعت کم جابجا شدند. پس از پایدار شدن پاسخ سیناپسی، جهت محاسبه شدت جریان مورد نیاز برایTS، PP و HFS، ابتدا رابطه I/O برای هر حیوان بدست آمد. به این ترتیب که، مسیر پرفورانت با شدتهای۱۰۰ تا۱۰۰۰ میکروآمپر،تحریک و پاسخ برانگیخته میدانی ثبت گردید. بعد از تعیین حداکثر دامنه پتانسیل میدانی، شدتی که در آن اندازه دامنه معادل ۴۰ درصد دامنه حداکثر بود برای ثبت TS و PP و ۸۰ درصد آن به عنوان شدت جریان HFS در نظر گرفته شد. آنچه در مورد محاسبه رابطه I/O بیان شد، در مورد هر یک از حیوانات بی هوش در همان روز ثبت انجام شد. پاسخ بر انگیخته شده توسط TS و PP، بعد از تقویت (۱۰۰۰= gain) و فیلتر شدن (باند عبور: ۱ هرتز تا ۱۰ کیلوهرتز)، با فرکانس ۱۰ کیلو هرتز نمونه برداری و در کامپیوتر ذخیره گردید. تجزیه و تحلیل به صورت off line بر روی پاسخهای ذخیره شده انجام گرفت.

برای داده‌های الکتروفیزیولوزیکی، از آزمون Repeated Measure Two-Way ANOVA، برای ارزیابی تفاوت بین گروه‌ها از آزمون BonferroniPost-hoc استفاده شد. داده‌ها با نرم افزارآماری PRISM بوده و آزمون‌های آماری Kruskal-Wallis وMann-Whitney تجزیه و تحلیل شدند و P<۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

این مطالعه نشان داد که در حیوانات دیابتی دامنه پتانسیل تجمعی و شیب پتانسیل میدانی پس از تحریک با فرکانس بالا در گروه مبتلا به دیابت کاهش می یابد و در گروه‌های دیابتی تحت درمان با بر برین در یک روند وابسته به دوز افزایش می‌یابد. وزن گروه کنترل دیابتی در سومین هفته به میزان قابل توجهی نسبت به گروه کنترل کاهش یافت (P<۰/۰۰۱). همچنین، در هفته پنجم بعد از تزریق STZ، وزن بدن حیوانات در گروه های دیابتی تحت درمان با بربرین (۵۰ mg/kg و ۱۰۰) به میزان قابل توجهی نسبت به گروه دیابتی افزایش یافت (P<۰/۰۵) و (P<۰/۰۰۱) (نمودار ۱).

میزان قند خون در موش‌های صحرایی دیابتی نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۰۱) و همچنین درمان مزمن با بربرین (۵۰ mg/kg و ۱۰۰) به مدت ۷ هفته کاهش معنی‌داری در قندخون حیوانات در مقایسه با گروه کنترل دیابتی ایجاد نمود (P<۰/۰۱). علاوه بر این، موش‌های صحرایی گروه کنترل تحت تیمار با دارو (۱۰۰ mg/kg) وزن و قند خون نسبت به گروه کنترل کاهش یافت (نمودار ۲).

بررسی حافظه فضایی با استفاده از ماز Y: نتایج رفتاری آزمون ماز Y نشان داد که درصد تناوب می‌تواند شاخصی از حافظه کوتاه مدت فضایی از نوع باز شناختی باشد که در حیوانات دیابتی (۴±۵۱) به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل (۶±۷۶) بوده (P<۰/۰۱) و در گروه‌های دیابتی تحت درمان با بربرین (۱۰۰ mg/kg) (۳±۷۳) نسبت به گروه دیابتی (۴±۵۱) به طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵). در این خصوص، تجویز بربرین به گروه کنترل (۵±۷۳)تفاوت معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل ایجاد نکرد (نمودار ۳).

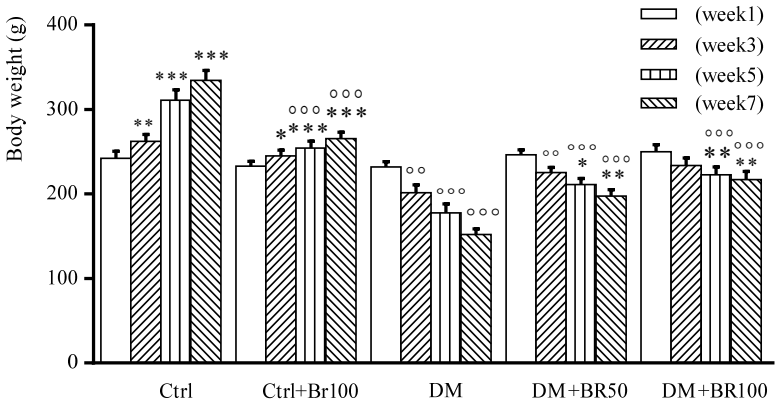
آزمایش های الکتروفیزیولوژیک: بررسی تأثیر دیابت بر روند LTP و حفظ آن با استفاده از معیار دامنه پتانسیل‌های تجمعی (PS-LTP) نشان داد که میانگین دامنه PS-LTP پس از تحریک کزازی در گروه دیابتی (۱۲±۱۱۲)در مقایسه با گروه کنترل (۱۴±۱۹۲) به طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۱). میانگین دامنه در گروه دیابتی تحت درمان با بربرین (۱۰۰ mg/kg) (۱۰±۱۹۲) در مقایسه با گروه دیابتی (۱۲±۱۱۲)به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (P<۰/۰۱).

از طرف دیگر، در گروه دیابتی تحت درمان با بربرین (۱۰۰ mg/kg) (۱۰±۱۹۲)، پس از تحریک کزازی، افزایش قابل توجهی در دامنه PS-LTP مشاهده شد (P<۰/۰۰۱). همچنین تفاوت قابل توجهی بین گروه دیابتی تحت درمان با دوز ۵۰mg/kg (۹±۱۲۶) در مقایسه با گروه دیابتی (۱۲±۱۱۲)مشاهده نگردید (نمودار ۴).

بررسی نتایج تأثیر دیابت بر روند القای (LTP) و حفظ آن، با استفاده از معیار شیب پتانسیل پس سیناپسی (fEPSP-LTP) نشان داد که میانگین شیب fEPSP-LTP در گروه دیابتی تحت درمان با بربرین (۱۰۰ mg/kg) (۳±۱۴۷) در مقایسه با گروه دیابتی (۶±۱۲۱) به طور معنی‌داری افزایش داشته است.

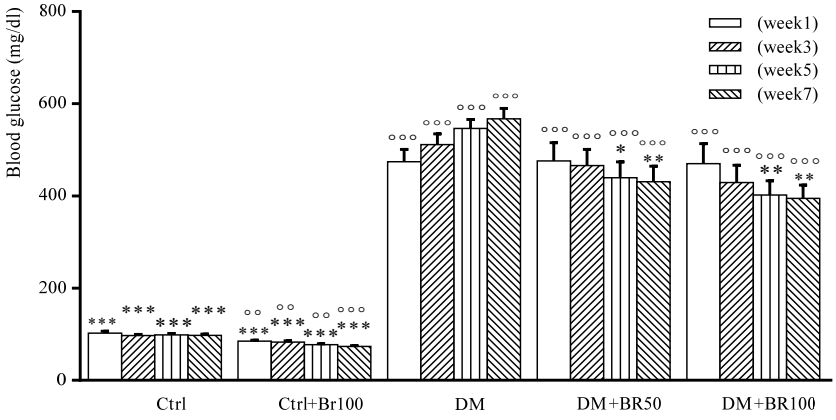
همچنین میانگین شیب fEPSP-LTP در گروه دیابتی (۶±۱۲۱)در مقایسه با گروه کنترل (۱۱±۱۶۷) به طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۱) (شکل ۱). همچنین تفاوت معنی داری نیز بین گروه کنترل (۱۱±۱۶۷) و گروه کنترل تحت درمان با دوز (۱۰۰mg/kg)(۱۰±۱۶۸) مشاهده نگردید (نمودار ۵).

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.16.6.4.4]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.6.33]



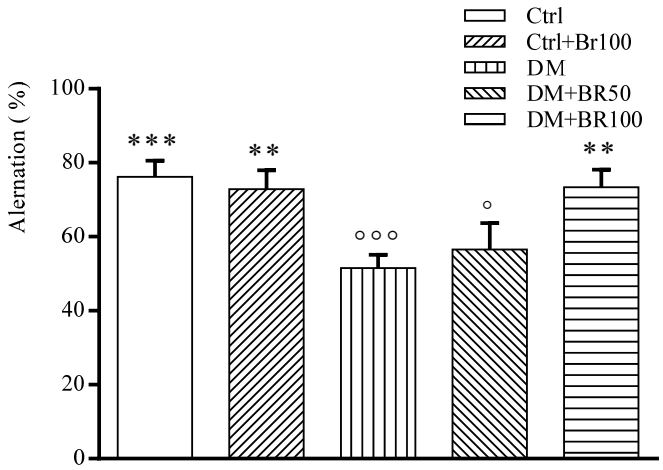
نمودار ۱. مقایسه وزن بدن حیوانات در هفته اول، سوم، پنجم و هفتم.

تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی در سطح (P<۰/۰۵) را با * و در سطح (P<۰/۰۱) را با ** و در سطح(P<۰/۰۰۱) را با *** و تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل در سطح (P<۰/۰۵) را با o و درسطح (P<۰/۰۱) را با oo و در سطح (P<۰/۰۰۱) را با ooo نشان داده‌شده‌است.



نمودار ۲. مقایسه قند خون حیوانات در هفته اول، سوم، پنجم وهفتم

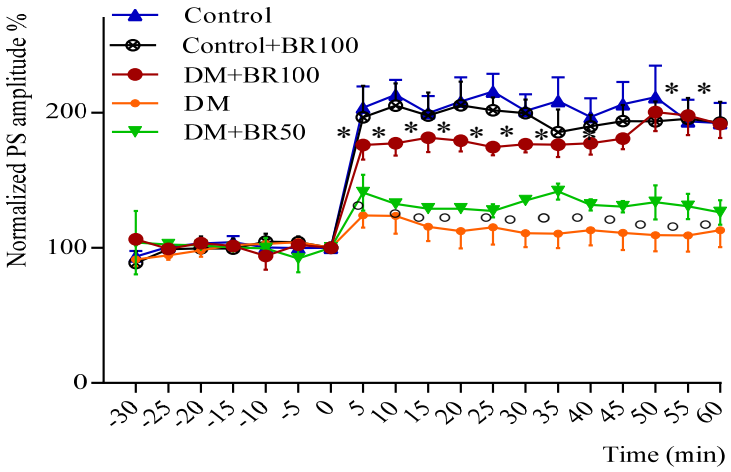
تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی در سطح (P<۰/۰۵) را با * و درسطح (P<۰/۰۱) را با ** و در سطح (P<۰/۰۰۱) را با *** و تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل در سطح (P<۰/۰۱) را با oo و در سطح (P<۰/۰۰۱) را با ooo نشان داده‌شده‌است.



نمودار ۳. مقایسه درصدتناوب حیوانات، ۸ هفته پس از القای دیابت در گروه های مختلف با آزمون مازY.

نتایج به صورت (میانگین ± انحراف معیار) بیان شده است. تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی در سطح (P<۰/۰۱) را با ** و در سطح (P<۰/۰۰۱) را با *** و تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل درسطح (P<۰/۰۵) را با o و در سطح (P<۰/۰۰۱) را با ooo نشان داده شده‌است.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.16.6.4.4]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.6.33]

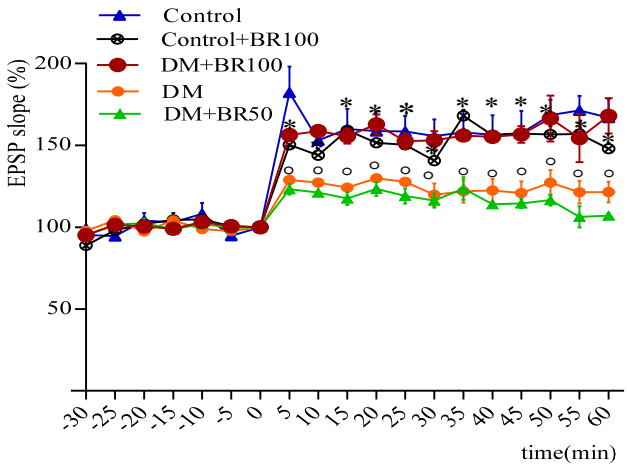


نمودار ۴. مقایسه میانگین دامنه پتانسیل‌های تجمعی(PS-LTP) بین گروه‌های مختلف.

در این شکل ثبت LTP به مدت ۶۰ دقیقه متعاقب HFS نشان داده شده است. هر ثبت میانگینی از ۱۰ ثبت متوالی در طی ۱۰۰ ثانیه با فواصل ۱۰ میلی ثانیه‌ای است.



شکل ۱. پتانسیل‌های پس‌سیناپسی بین گروه‌های مختلف.



نمودار ۵. مقایسه میانگین شیب پتانسیل‌های پس‌سیناپسی بین گروه‌های مختلف.

ثبت LTP به مدت ۶۰ دقیقه متعاقب HFS نشان داده شده است. هر ثبت میانگینی از ۱۰ ثبت متوالی در طی ۱۰۰ ثانیه با فواصل ۱۰ثانیه ای است.

بحث و نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که دیابت قادر است به طور معنی‌داری شکل-پذیری سیناپسی را در نورون‌های ناحیه شکنج دندانه‌دار مختل کند و درمان با بربرین به ویژه در دوز ۱۰۰ mg/kg به طور معنی‌داری این اختلال در عملکرد سیناپسی و حافظه را بهبود می بخشد. این نتیجه‌گیری بر اساس کاهش شیب EPSP-LTP و PS-LTP در گروه دیابتی و بهبود آن در گروه دیابتی تحت درمان با بربرین (۱۰۰ mg/kg) به دست آمد. علاوه بر این، نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل و دیابتی تحت درمان (۱۰۰ mg/kg) از نظر القاء LTP و ابقای آندرناحیه شکنج دندانه‌دار وجود ندارد. هم‌چنین درمان مزمن با بربرین، افزایش قابل‌توجهی در بهبود اختلال های رفتاری ناشی از دیابت در مقایسه با گروه کنترل دیابتی ایجاد نمود. بربرین آلکالوئیدی ایزوکوئینولین است که به عنوان یک داروی خوراکی سالیان متمادی در چین استفاده گردیده و آثار

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.16.6.4.4]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.6.33]

ضد اضطرابی، ضد دردی، ضد التهابی، ضد افسردگی و ضد فراموشی آن گزارش شده است (۱۲-۱۰). از آن‌جا که mg/kg/day ۵۰،۱۰۰ و نحوه تجویز گاواژ به مصرف بالینی دارو نزدیک‌تر بوده و نسبت به تزریق سیاهرگی و یا درون صفاقی غیرتهاجمی‌تر است برای مطالعه روی تغییرات شکل‌پذیری سیناپسی، در نظر گرفته شد (۲۳و۱۲و۱۰). علاوه بر این، درمان مزمن با بربرین (۱۰۰mg/kg، ۵۰) منجر به کاهش سطح گلوکز خون، و افزایش وزن بدن در موش‌های صحرایی دیابتی گردید که این نتایج مشابه سایر پژوهش‌ها در این زمینه است (۳۱و۳۰و۲۰و۱۸). نورون‌های موجود در هیپوکامپ نقش مهمی در یادگیری و حافظه دارند و نقش شکنج دندانه‌ای بعنوان مسیر ورود پیام‌ها به هیپوکامپ حائز اهمیت است (۳۳و۳۲). پیام عصبی از کورتکس انتورینال به ترتیب وارد سلول‌های گرانولی شکنج دندانه‌دار، لایه پیرامیدال ناحیه CA3 و سپس لایه پیرامیدال CA1 و در انتها وارد ساب‌یکولوم شده و مجددا به کورتکس انتورینال وارد می‌شود. مطالعات نشان داده است که تغییرات سیناپسی کوتاه مدت و بلند مدت در این مدارها عامل اصلی ایجاد رگه‌های حافظه در هیپوکامپ محسوب می‌شوند. در صورتیکه سلول‌های گرانولی شکنج دندانه‌دار قادر به تولید پتانسیل عمل نباشند پیام‌ها قادر به ورود به مسیرهای هیپوکامپ نبوده و حافظه مختل می‌شود.

دیابت ملیتوسبه شدت با اختلال های عملکردی در سیستم اعصاب مرکزی همراه است (۱). شواهد متعددی نشان داده است که پس از القاء دیابت به تدریج اختلال عملکرد شناختی و شکل‌پذیری سیناپسی در شکنج دندانه‌دار هیپوکامپ ظاهر میشود (۵و۴). هم‌چنین نتایج دیگری نشان دادند که آسیب‌های مغزی ناشی از دیابت توسط فرایندی چندعاملی کنترل میشود (۳۴). در این راستا، LTP توسط محققین زیادی، به عنوان یک مکانیسم سیناپسی مهم برای ارزیابی طولانی مدت شکل‌پذیری سیناپسی در جوندگان در نظر گرفته شده است. LTP در حقیقت تقویت انتقال سیناپسی بعد از تحریک کزازی است که در نتیجه شکل-پذیری سیناپسی ایجاد می شود و در سطح کورتکس و زیر کورتکس به عنوان مکانیسم پایه سلولی برای حافظه و یادگیری محسوب می شود (۳۶و۳۵و۲۵). به عبارت دیگر، LTP افزایش طولانی مدت در قدرت سیناپسی است (۳۳) که از طریق مشارکت در شکل‌پذیری سیناپسی با یادگیری و حافظه مرتبط است (۲۷و۲۶) و حداقل یک گروه از محققین، به طور مستقیم، وابستگی LTP را با حافظه فضایی نشان دادند (۳۷). لذا در شرایط آزمایشگاهی با تحریک با فرکانس بالا (بیشتر از ۱۰۰ هرتز) و به دنبال آن ثبت LTP به خوبی می‌توان حافظه طولانی مدت را ارزیابی کرد (۵). نتایج این مطالعه نشان داد که در حیوانات دیابتی دامنه پتانسیل تجمعی و شیب پتانسیل میدانی پس از تحریک با فرکانس بالا در گروه مبتلا به دیابت کاهش می‌یابد ودر گروه‌های دیابتی تحت درمان با بر برین در یک روند وابسته به دوز افزایش می‌یابد. به عبارت دیگر، در حیوانات دیابتی، بعد از تحریک با فرکانس بالا، شیب fEPSP و دامنه PS به طور معنی‌داری مهار می شود. لذا با توجه به زنده بودن سلول‌های گرانولی، این اختلال در انتقال و شکل‌پذیری سیناپسی ممکن است به دلیل مختل شدن عملکرد سیناپس‌های این منطقه باشد که منطبق بر مطالعات قبلی در این زمینه است (۳۸و۸). اگرچه تعدادی از تحقیقات بالینی و پیش بالینی اثار مفید بربرین در کاهش عوارض ناشی از دیابت را نشان داده اند فرضیه‌های ذیل در خصوص نقش بربرین در پیشگیری از اختلال عملکرد شناختی ناشی از دیابت محتمل به نظر می‌رسد که با نتایج بدست آمده در این پژوهش همخوانی داشته و مؤید آن است (۳۱و۱۸و۱۷).

با توجه به انطباق نتایج مطالعه حاضر با آثار آنتی اکسیدانی بربرین به نظر می‌رسد، بربرین پراکسیداسیون لیپیدها را کاهش داده، به عنوان یک جمع کننده رادیکال های آزاد عمل نموده و با جلوگیری از تجمع گونه‌های اکسیژن فعال و استرس اکسیداتیو، از کاهش عملکرد شناختی هیپوکمپ ناشی از دیابت در موشهای صحرایی دیابتی جلوگیری کرده است (۴۰و۲۰). علاوه بر این، مطالعات قبلی نشان داده که بربرین با مهار فعالیت آنزیماستیل کولیناستراز می‌تواند در مدل موش‌های صحرایی مبتلا به آلزایمر نقش مهمی در بهبود اختلال های حافظه ای ایفا کند (۲۳و۱۵). هم‌چنین بربرین با مهارسیکلواکسیژناز (COX2) دارای خواص ضدالتهابی است. به تازگی مشخص شده که مهار کننده‌های COX2 به سبب ویژگی ضد التهابی دارای نقش حفاظت نورونی می باشد (۴۱و۴۰)، لذا تصور می‌شود که بربرین ممکن است به سبب توانایی در مهار بیان سیکلو اکسیژناز و در نتیجه کاهش تولید پروستاگلاندین‌های مختلف از جمله PGE2 در درمان اختلال های عصبی مفید واقع شود (۴۲و۴۰). هم‌چنین مشخص شده که در مراحل اولیه القای دیابت با STZ، با افزایش غلظت خارج سلولی گلوتامات در مغز آثار نورو توکسیک ایجاد می شود (۴۴و۴۳). از سوی دیگر یو و همکاران نشان دادند که بربرین در نورون‌های هیپوکامپ موش‌های صحرایی دیابتی، سمیت سلولی ناشی از NMDA را مهار می‌کند. هم‌چنین بربرین اتصال به گیرنده NMDA را در قشر مغز کاهش می‌دهد (۴۵و۴۱و۲۲).

براساس پژوهش های دیگری مشخص شده که گیرنده‌های GLP-1 دارای خواص مشابه فاکتور رشد بوده، نقش مؤثری در اختلال عملکرد شناختی، یادگیری ناشی از دیابت ایفا می‌کنند. GLP-1 با تعدیل انتقال سیناپسی، القایLTP را نیز افزایش می‌دهد. هم‌چنین GLP-1 از طریق تعدیل رهایش انتقال دهنده‌های عصبی می‌تواند بر فعالیت نورون‌ها تأثیر گذارد (۴۷و۴۶). در مطالعه دیگری نشان شده که تزریقGLP-1 میزان شلیک خودبخودی نورون‌ها را در هیپوکامپ به شدت افزایش می‌دهد. (۴۸). در برخی از پژوهش ها مشخص شده که GLP-1 نه تنها بطور مستقیم در آزاد شدن انتقال دهنده‌های عصبی و تشکیلLTP مداخله می‌کند بلکه سیناپس‌ها را در برابر آثار مضر قطعات بتاآمیلوئید نیز محافظت می‌کند (۵۰و۴۹) از آنجایی که بربرین آزاد شدن GLP-1 و بیوسنتز آن را در حیوانات دیابتی افزایش می‌دهد (۵۲و۵۱و۲۴) به نظر می‌رسد بربرین می‌تواند اختلال عملکرد شناختی ناشی از دیابت را از طریق تعدیل گیرندهGLP-1 بهبود بخشد. لذا به نظر می‌رسد بربرین اثر محافظتی خود بر عملکرد حافظه در آزمون مازY، به عنوان شاخص پلاستیسیته کوتاه مدت و بهبود القای LTP به عنوان شاخص حافظه‌ی بلند مدت را با مکانیسم‌های فوق وساطت می‌کند. در این راستا برای اولین بار، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بازسازی LTP هیپوکامپ می تواند یکی از مکانیسم‌هایی باشد که بوسیله آن بربرین عملکرد شناختی و عصبی را در بیماران دیابتی بهبود بخشد. اگرچه برای روشن شدن مکانیسم دقیقا انجام آزمایش های تکمیلی بیشتری ضرورت می‌یابد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از زحمات خانم نوروزی مسئول آزمایشگاه دانشکده بهداشت شاهرود، خانم داوردوست و خانم فضلی کارشناسان محترم آزمایشگاه دانشکده بهداشت شاهرود، تشکر و قدردانی می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.16.6.4.4]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.6.33]

Effect of Berberine Chloride on Long Term Potentiation (LTP) at Dentate Gyrus in Streptozotocin- Induced Diabetic Rats

H. Kalalian Moghaddam (PhD)[1*], T. Baluchnejadmojarad (PhD) [2], M. Roghani (PhD)[3], M. Khaksari (PhD) [1], A. Ronaghi (MSc) [4], M. Mesripour Alavijeh (MSc) [5]

1. Department of Physiology, School of Medicine, Shahrood University of Medical Sciences, Shahroud, Iran
2. Department of Physiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3. Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran
4. Department of Physiology, School of Paramedical Science, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
5. Department of Physiology, School of Basic Science, Islamic Azad University, Damghan, Iran

J Babol Univ Med Sci; 16(6); Jun 2014; pp: 33-42

Received: Jun 21st 2013, Revised: Sep 22nd 2013, Accepted: Jan 5th 2014.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Berberine, an isoquinoline alkaloid is reported to exhibit an anti-diabetic and antioxidant effect. Thus,this research study was conducted, for the first time, to evaluate the effect of berberine on synaptic plasticity at dentate gyrus (DG) of streptozotocin- induced diabetic rats.

METHODS: In this study, the male Wistar rats (n=40) were randomly allocated into five groups: control, control berberine-treated (100mg/kg), diabetic, berberine-treated diabetic (50, 100mg/kg) groups. Diabetes was induced intraperinoneally administration at the dose of 55mg/kg. Berberine was orally administered at doses of 50 and 100mg/kg/day one week after STZ injection for a period of 7 weeks. Blood samples were taken from the tail vein 1, 3, 5, 7 weeks after STZ injection to measure blood glucose levels and Y maze task and passive avoidance test were used for assessment of learning and memory deficiency. Moreover electrophysiological evaluation including: field excitatory post-synaptic potentials (fEPSP) and Long-term potentiation (LTP) in perforate path-DG synapses was assessed in order to investigate the effect of berberine on synaptic plasticity. Field excitatory post-synaptic potential (fEPSP) slope and population spike (PS) amplitude were also measured.

FINDINGS: Increased blood glucose, reduced weight and short-term spatial memory in diabetic rats treated with berberine were improved ($p<0.01$). With respect to the control group (192±14), PS amplitude was significantly decreased in the diabetes group (112±12). In comparison to control group (112±12), chronic treatment with berberine (100mg/kg) (192±10) improved PS amplitude ($p<0.05$). In addition fEPSP amplitude was significantly decreased in the diabetes group (121±6) in comparison to control group (167±11). In comparison to control group (152±6), chronic treatment with berberine (100mg/kg) (147±3) improved fEPSP amplitude ($p<0.05$).

CONCLUSION: This study showed that berberine treatment in dose dependent manner ameliorates memory impairment and improves synaptic plasticity in STZ diabetic rats.

KEY WORDS: *Berberine, Diabetes, Dentate gyrus, Learning and memory, Synaptic plasticity.*

Please cite this article as follows:

Kalalian Moghaddam H, Baluchnejadmojarad T, Roghani M, Khaksari M, Ronaghi A, Mesripour Alavijeh M. Effect of berberine chloride on long term potentiation (LTP) at dentate gyrus in streptozotocin- induced diabetic rats. J Babol Univ Med Sci 2014;16(6):33-42.

* **Corresponding Author; H. Kalalian Moghaddam (PhD)**

Address: Department of Physiology, School of Medicine, Shahrood University of Medical Sciences, Shahroud, Iran

Tel: + 98 273 3395054

E-mail: h.kalalian@gmail.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.16.6.4.4]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.6.33]

References

1.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;32(3):445-50.

2.Tesfaye S. Neuropathy in diabetes. Medicine 2010;38(12):649-55.

3.Artola A. Diabetes, stress and ageing related changes in synaptic plasticity in hippocampus and neocortex the same metaplastic process?" Eur J Pharmacol 2008;585(1):153-62.

4.Reisi P, Babri S, Alaei H, Sharifi MR, Mohaddes G, Lashgari R. Effects of treadmill running on short-term pre-synaptic plasticity at dentate gyrus of streptozotocin-induced diabetic rats. Brain Rese 2008;1211:30-6.

5.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;17(1):33-8.

6.Magarinos AM, Verdugo JM, McEwen BS. Chronic stress alters synaptic terminal structure in hippocampus. Proc Natl Acad Sci USA 1997;94(25):14002-8.

7.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;862(1-2):292-300.

8.Trudeau F, Gagnon S, Massicotte G. Hippocampal synaptic plasticity and glutamate receptor regulation: influences of diabetes mellitus. Eur J Pharmacol 2004;490(1-3):177-86.

9.Biessels GJ, Kerssen A, de Haan EH, Kappelle LJ. Cognitive dysfunction and diabetes: implications for primary care. Prim Care Diabetes 2007;1(4):187-93.

10.Imanshahidi M, Hosseinzadeh H. Pharmacological and therapeutic effects of Berberis vulgaris and its active constituent, berberine." Phytother Res 2008;22(8):999-1012.

11.Kulkarni SK, Dhir A. On the mechanism of antidepressant-like action of berberine chloride. Eur J Pharmacol 2008;589(1-3):163-72.

12.Kulkarni SK, Dhir A. Berberine: a plant alkaloid with therapeutic potential for central nervous system disorders. Phytother Res 2010;24(3):317-24.

13.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;55(8):2256-64.

14.Gu Y, Zhang Y, Shi X, et al. Effect of traditional Chinese medicine berberine on type 2 diabetes based on comprehensive metabonomics. Talanta 2010;81(3):766-72.

15.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;220(1):30-41.

16.Cok A, Plaisier C, Salie MJ, Oram DS, Chenge J, Louters LL. Berberine acutely activates the glucose transport activity of GLUT1. Biochimie 2011 93(7): 1187-1192.

17.Yin J, Xing H, Ye J. Efficacy of berberine in patients with type 2 diabetes mellitus. Metabolism 2008;57(5):712-17.

18.Zhang YF, Li XY, Zou D, et al. Treatment of type 2 diabetes and dyslipidemia with the natural plant alkaloid berberine. J Clin Endocrinol Metab 2008;93(7):2559-65.

19.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;58(1):109-19.

20.Zhou JY, Zhou SW, 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;606(1-3):262-8.

21.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;18(3):1244-51.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.16.6.4.4]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.6.33]

22.Yoo JH, Yang EM, Cho JH, et al. Inhibitory effects of berberine against morphine-induced locomotor sensitization and analgesic tolerance in mice. Neuroscience 2006;142(4): 953-61.
23.Zhu FQ, Qian CY. Berberine chloride can ameliorate the spatial memory impairment and increase the expression of interleukin-1 beta and inducible nitric oxide synthase in the rat model of Alzheimer's disease. BMC Neurosci 2006;7:78.
24.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;79(7):1000-6.
25.Cooke SF, Bliss TV. Plasticity in the human central nervous system. Brain 2006;129(Pt 7):1659-73.
26.Raymond CR. Different requirements for action potentials in the induction of different forms of long-term potentiation. J Physiol 2008;586(7):1859-65.
27.Raymond CR. LTP forms 1, 2 and 3: different mechanisms for the long in long-term potentiation. Trends Neurosci 2007;30(4):167-75.
28.Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 5th ed. San Diego: Elsevier Academic Press 2005; p: 83.
29.Taube JS, Schwartzkroin P. Mechanisms of long-term potentiation: a current-source density analysis. J Neurosci 1988;8(5):1645-55.
30.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;25(4):496-502.
31.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. 108(1): 109-115.
32.Aoyagi A, Saito H, Abe K, Nishiyama N. Early impairment and late recovery of synaptic transmission in the rat dentate gyrus following transient forebrain ischemia in vivo. Brain Res 1998;799(1):130-7.
33.Katsuta K, Umemura K, Ueyama N, Matsuoka N. Pharmacological evidence for a correlation between hippocampal CA1 cell damage and hyperlocomotion following global cerebral ischemia in gerbils. Eur J Pharmacol 2003;467(1-3):103-9.
34.Cameron NE, Eaton SE, Cotter MA, Tesfaye S. Vascular factors and metabolic interactions in the pathogenesis of diabetic neuropathy. Diabetologia 2001;44(11):1973-88.
35.Bliss TV, Collingridge GL. A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus. Nature 1993;361(6407):31-9.
36.Kamal A, Biessels GJ, Gispen WH, Ramakers GM. Synaptic transmission changes in the pyramidal cells of the hippocampus in streptozotocin-induced diabetes mellitus in rats. Brain Res 2006;1073-4: 276-80.
37.Tang YP, Shimizu E, Dube GR, et al. Genetic enhancement of learning and memory in mice. Nature 1999;401(6748):63-9.
38.Gispen WH, Biessels GJ. Cognition and synaptic plasticity in diabetes mellitus. Trends Neurosci 2000;23(11): 542-9.
39.Ye L, Wang F, et al. Diabetes impairs learning performance and affects the mitochondrial function of hippocampal pyramidal neurons. Brain Res 2011;1411:57-64.
40.Dhir A, Naidu PS, Kulkarni JK. Neuroprotective effect of nimesulide, a preferential COX-2 inhibitor, against pentylenetetrazol (PTZ)-induced chemical kindling and associated biochemical parameters in mice. Seizure 2007;16(8):691-7.
41.Yoo HJ, Kang HJ, Jung HJ, Kim K, Lim CJ, Park EH. Anti-inflammatory, anti-angiogenic and anti-nociceptive activities of Saururus chinensis extract. J Ethnopharmacol 2008;120(2):282-6.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.16.6.4.4]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.6.33]

42.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;58(4):431-6.
43.Guyot LL, Diaz FG, O'regan MH, Song D, Phillis JW. The effect of streptozotocin-induced diabetes on the release of excitotoxic and other amino acids from the ischemic rat cerebral cortex. Neurosurgery 2001;48(2): 385-90; discussion 390-1.
44.Molteni R, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Differential effects of acute and chronic exercise on plasticity-related genesin the rat hippocampus revealed by microarray. Eur J Neurosci 2002;16(6):1107-16.
45.Lee T, Heo H, Kim Kwon Y. Effect of berberine on cell survival in the developing rat brain damaged by mk-801. Exp Neurobiol 2010;19(3):140-5.
46.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;630(1-3):158-62.
47.Holscher C. The role of GLP-1 in neuronal activity and neurodegeneration. Vitam Horm 2010;84:331-54.
48.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;205(1): 265-71.
49.Moloney AM, Griffin RJ, Timmons S, O'Connor R, Ravid R, O'neill C. 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;31(2):224-43.
50.Gault VA, Hölscher C. GLP-1 agonists facilitate hippocampal LTP and reverse the impairment of LTP induced by beta-amyloid. Eur J Pharmacol 2008;587(1-3):112-17.
51.LuSS, Yu YL, et al. Berberine promotes glucagon-like peptide-1 (7–36) amide secretion in streptozotocin-induced diabetic rats. J Endocrinol 2009;200(2):159-65.
52.Liu LZ, Cheung SC, Lan LL, et al. Berberine modulates insulin signaling transduction in insulin-resistant cells. Mol Cell Endocrinol 2010;317(1-2):148-53.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1393.16.6.4.4]
[DOI: 10.18869/acadpub.jbums.16.6.33]