

بررسی اثر کورکومین بر حافظه فضایی کوتاه مدت و یادگیری و حافظه آزمون اجتنابی غیر فعال در موش سفید بزرگ دیابتی و تعیین نقش پراکسیداسیون لیپیدی

نویسندگان: مهرداد روغنی^{۱*}، توراندخت بلوچ نژاد مجرد^۲

۱. استاد مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۲. استاد فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی تهران،

ایران

E-mail: mehjour@yahoo.com

* نویسنده مسئول: مهرداد روغنی

چکیده

مقدمه و هدف: کورکومین دارای آثار ضددیابتی و آنتی‌اکسیدانسی و تقویت‌کننده حافظه است؛ لذا هدف بررسی حاضر، تعیین اثر تجویز درازمدت آن بر یادگیری و حافظه موش سفید بزرگ دیابتی بود. مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، موش‌های سفید بزرگ به پنج گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با کورکومین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، دیابتی و دیابتی تحت درمان با کورکومین (۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تقسیم شدند. هفت روز پس از تزریق استرپتوزوتوسین، کورکومین به مدت پنج هفته تجویز شد. برای بررسی یادگیری و حافظه، آزمون‌های اجتنابی غیرفعال و ماز Y به‌کاررفتند؛ دربارهٔ بافت هیپوکامپ، میزان مالون دی‌آلدئید نیز تعیین شد.

یافته‌ها: کاهش معنی‌دار تأخیر در حین عبور در موش‌های دیابتی ($p < 0/01$) و دیابتی تحت تیمار با دوز پایین کورکومین ($p < 0/05$) مشاهده شد و این پارامتر به‌طور معنی‌دار در گروه دیابتی تحت تیمار با دوز بالای دارو بیشتر از گروه دیابتی بود ($p < 0/05$)؛ به‌علاوه، در صد تناوب در حیوانات دیابتی به‌طور معنی‌دار کمتر از گروه کنترل بود ($p < 0/05$) و این پارامتر در گروه‌های دیابتی تحت تیمار با دوز بالای دارو بیشتر از گروه دیابتی بود ($p < 0/05$)؛ همچنین، درمان با کورکومین در دوز بالا میزان مالون دی‌آلدئید را به‌صورت معنادار کاهش داد ($p < 0/05$).

نتیجه‌گیری: تجویز درازمدت کورکومین به میزان ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب تقویت توانایی نگهداری اطلاعات در انبار حافظه و به‌یادآوری آنها در حیوانات دیابتی شده، بهبود حافظه فضایی کوتاه مدت را به دنبال دارد.

واژگان کلیدی: کورکومین، یادگیری، حافظه، دیابت قندی، استرپتوزوتوسین، پراکسیداسیون لیپیدی

دوماهنامه علمی-پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال نوزدهم - شماره ۹۷
اسفند ۱۳۹۰

دریافت: ۹۰/۹/۱۶
آخرین اصلاح‌ها: ۹۰/۱۱/۱۷
پذیرش: ۹۰/۱۲/۲

مقدمه

دیابت قندی، یک بیماری اندوکراین شایع محسوب می‌شود که در دهه‌های آینده، شیوع آن در جامعه افزایش خواهد یافت (۱). بروز حالت دیابت یکی از ریسک فاکتورهای مهم در ایجاد حالت دمانس پیری است که خود از علائم بیماری آلزایمر محسوب می‌شود (۲). هرچند تاکنون تحقیقات زیادی در خصوص ارتباط میان دیابت قندی و نورویاتی محیطی انجام شده است، درباره آثار دیابت بر سیستم اعصاب مرکزی به‌ویژه مغز از نظر ساختمانی و عملکردی (تغییرهای رفتاری، شامل یادگیری و حافظه) اطلاعات کمتری یافت می‌شود (۳)؛ در این خصوص، حالت دیابت قندی به‌ویژه نوع ۱، بروز اختلال در یادگیری، حافظه و شناخت در مدل‌های تجربی بیماری را سبب می‌شود؛ به‌علاوه، ارتباطی تنگاتنگ میان بروز دیابت قندی و ظهور نقائص در یادگیری و حافظه در موجودات آزمایشگاهی وجود دارد که ساختارهای مسئول بروز این اختلال‌ها به‌خوبی مشخص نشده‌اند، هرچند برای دو فرضیه میکروواسکولار و استرس اکسیداتیو ناشی از تشدید تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن شواهد زیادی موجود است (۴)؛ درضمن، حالت دیابت از نظر ساختمانی، کاهش بارز تراکم نورونی در ناحیه شکنج دنداندار را موجب می‌شود که این ناحیه، خود نقشی مهم در حافظه فضایی و یادگیری دارد (۲)؛ همچنین، حالت دیابت قندی موجب کاهش بیان آنزیم نیتریک اکسید سنتاز نورونی در ناحیه هیپوکامپ می‌شود که نقشی مهم در پلاستیسیته سیناپسی و روندهای یادگیری و حافظه ایفا می‌کند که این تا حدودی توجیه‌کننده بروز اختلال‌ها در یادگیری، حافظه، و تقویت درازمدت در حیوانات دیابتی است (۵ و ۶).

با توجه به افزایش دانش بشری درباره هتروژنیته این بیماری، نیاز برای یافتن ترکیب‌های مؤثر با عوارض جانبی کمتر در جلوگیری از دیابت یا درمان یا مشکلات ناشی از آن به‌شدت احساس می‌شود. مواد طبیعی مشتق از گیاهان دارویی اگرچه در طی دو دهه اخیر در درمان

دیابت قندی و عوارض ناشی از آن مطرح بوده‌اند، درباره اثربخشی قطعی بسیاری از آنها تاکنون شواهد تحقیقاتی و معتبر یافت نمی‌شود (۷)؛ در این خصوص، کورکومین مهم‌ترین ماده مؤثر گیاه زردچوبه با نام علمی *Curcuma longa* است که خاصیت آنتی‌اکسیدانتی قابل‌توجه داشته (۸ و ۹)، کاهش رادیکال‌های آزاد و مهار پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش فعالیت سوپراکسید دیس موتاز را سبب می‌شود (۱۰)؛ اثر ضدالتهابی را دارد (۱۱) و همچنین آثار کاهش‌دهندگی چربی و قند خون را دارد (۱۲) و موجب بهبود حافظه در مدل تجربی آلزایمر با استفاده از تزریق داخل بطنی استرپتوزوتوسین می‌شود (۸) لذا در این مطالعه، اثر تجویز درازمدت این ماده بر یادگیری و حافظه فضایی در موش سفید بزرگ دیابتی با استفاده از آزمون اجتنابی غیرفعال و ماز Y مورد بررسی قرار گرفت و نقش پراکسیداسیون لیپیدی در بروز آثار آن نیز ارزیابی شد.

مواد و روش کار

در این مطالعه تجربی از ۴۰ سر موش سفید بزرگ نر نژاد ویستار (انستیتو پاستور، تهران) در محدوده وزنی ۲۱۰ تا ۲۸۰ گرم استفاده شد. تمام حیوانات در دامی ۲۱ تا ۲۳ درجه سانتی‌گراد در گروه‌های سه تا چهار تایی در هر قفس قرار داده شدند. حیوانات آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای مخصوص موش به مدت شش هفته دسترسی داشتند؛ درضمن، بررسی براساس دستورالعمل‌های انستیتو پاستور ایران برای نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی به‌انجام رسید.

در این بررسی از آن دسته موش‌های سفید بزرگ نر استفاده شد که در شرایط طبیعی و در حالت روزه‌داری (به مدت یک شب)، میزان گلوکز سرم آنها کمتر از ۲۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود؛ در این خصوص از شبکه رترواوریتال و لوله موئینه برای خون‌گیری استفاده شد. حجم خون اخذشده از هر حیوان نیز حدود ۱ میلی‌لیتر بود. موش‌ها به‌طور تصادفی به پنج گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با کورکومین (سیگما، آلمان) (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، دیابتی و دو گروه دیابتی تحت تیمار با

کوروکومین (۱۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تقسیم شدند. کوروکومین، هفت روز پس از تزریق استرپتوزوتوسین به مدت پنج هفته (داخل صفاقی و روزانه) تجویز شد. برای دیابتی‌کردن موش‌ها، از داروی استرپتوزوتوسین (سیگما، آمریکا) به صورت تک‌دوز و داخل صفاقی به میزان ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم حل شده در محلول سالین فیزیولوژیک سرد استفاده شد. یک هفته پس از تزریق، برای اطمینان از دیابتی‌بودن حیوانات، قند ادرار به روش نوار ادراری (شرکت گلوکو یاب، تهران) کنترل شد و فقط حیوانات دیابتی با میزان قند ادرار بالاتر از ۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر که با میزان قند خون بالاتر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر با در نظر گرفتن آستانه فیزیولوژیک ظهور قند در ادرار برابری می‌کند به مرحله بعدی برای شروع تیمار راه یافتند؛ البته در روزهای بعد، علائم بارز دیابت نظیر «پر خوری، پرنوشی، دیورز و کاهش وزن» نیز در برخی موش‌ها به تدریج دیده شد. در ضمن، کاهش وزن در پایان کار در تمام موش‌ها مشاهده شد. تعیین میزان وزن حیوانات قبل از انجام کار و در طی هفته‌های سوم و ششم پس از بررسی به انجام رسید؛ همچنین، اندازه‌گیری میزان گلوکز سرم توسط روش آنزیمی گلوکز اکسیداز (شرکت زیست شیمی، تهران) با استفاده از اسپکتروفوتومتر (اسپکترونیک ۲۰، آمریکا) انجام شد.

آزمون رفتار اجتنابی غیرفعال (Passive avoidance test)

برای بررسی رفتار احترازی غیرفعال از یک دستگاه به ابعاد ۲۰×۸۰×۲۰ سانتی‌متر (شاتل باکس) دارای یک محفظه روشن و یک محفظه تاریک استفاده شد. میله‌های فلزی موجود در کف محفظه تاریک برای شوک دادن به پای حیوان به کار رفتند. برای اعمال تحریک به محفظه تاریک از دستگاه استیمولاتور خاص (بهبودپرداز، تهران) استفاده شد. بدین منظور، تک تحریکی به شدت ۱ میلی‌آمپر و به مدت ۱ ثانیه اعمال شد. در این تحقیق، روش بررسی رفتار احترازی غیرفعال پس از بررسی به شرح زیر بود:

الف - سازش (Adaptation): در این مرحله، هر حیوان برای دو روز متوالی پیش از شروع آزمایش حداقل به مدت ۵ دقیقه، داخل دستگاه قرار داده شد. ب - اکتساب (Acquisition): در این مرحله (روز سوم) حیوان را در محفظه روشن قرار داده، به مدت ۲ دقیقه، این محفظه، تاریک نگه داشته شد؛ در این مدت در گیوتینی ارتباط‌دهنده محفظه روشن و تاریک به طور کامل بسته بود. در انتهای دوره، لامپ محفظه روشن و در گیوتینی باز می‌شد. به محض باز شدن در، کرنومتر به کار افتاده، مدت زمانی که طول می‌کشید تا حیوان از محفظه روشن به محفظه تاریک برود یادداشت می‌شد که این مدت زمان، «تأخیر اولیه یا IL (Initial latency)» نامیده شد (ملاک برای ورود حیوان به محفظه تاریک، عبور اندام‌های حرکتی پشتی حیوان از در ارتباط‌دهنده دو محفظه بود). سپس در را پایین آورده، یک تک‌شوک (۱ میلی‌آمپر، ۱ ثانیه) به حیوان وارد می‌آمد. در پایان کار پس از ۱ دقیقه حیوان به قفس منتقل می‌شد. در خصوص این مرحله، موش‌های با تأخیر اولیه بیشتر از ۶۰ ثانیه از آزمایش‌ها حذف شدند.

ج - نگهداری و به یادآوری اطلاعات (Retention and Recall): این مرحله ۲۴ ساعت پس از مرحله دوم در روز چهارم انجام پذیرفت و مشابه مرحله قبل بود با این تفاوت که وقتی حیوان به محفظه تاریک وارد شد، هیچ گونه شوکی را دریافت نمی‌کرد؛ در این مرحله، تأخیر در حین عبور یا STL (Step-through latency) اندازه‌گیری شد. منظور از STL مدت زمانی است که حیوان در محفظه روشن باقی می‌ماند قبل از آنکه به محفظه تاریک وارد شود. زمان قطع آزمایش (Cut-off time) در صورتی که موش به محفظه تاریک وارد نشود نیز ۴۸۰ ثانیه در نظر گرفته شد.

آزمون Y-maze و اندازه‌گیری رفتار تناوب (Alternation behavior)

این آزمون در پایان کار دو تا سه روز پیش از تست رفتار اجتنابی انجام پذیرفت؛ در این خصوص، «میزان عملکرد حیوانات از نظر حافظه کاری» از طریق مشاهده

در طول موج ۵۳۲ نانومتر است؛ این واکنش در $\text{PH}=2$ و در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد. بعد از سرد کردن نمونه، جذب نوری خوانده شد؛ برای این کار از نمونه‌های سانتریفوژ شده به مقدار ۱۵۰ میکرولیتر برداشته، به ۱/۵ میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید و ۱/۵ میلی‌لیتر از TBARS اضافه شد و تمامی نمونه‌ها و لوله‌های استاندارد با رقت‌های مختلف را به مدت ۸۰ دقیقه در بن‌ماری آب جوش قرار دادند تا واکنش صورت بگیرد؛ سپس محلول‌ها در دور ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ و جذب نوری آنها در طول موج ۵۳۲ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد؛ منحنی استاندارد نیز براساس رقت‌های تتراتوکسی پروپان تهیه شد و جذب‌های نوری به دست آمده از نمونه‌ها روی منحنی استاندارد تطبیق داده شد.

آنالیز آماری

تمام نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شده‌اند. درباره وزن و میزان گلوکز سرم حیوانات و پراکسیداسیون لیپیدی، برای مقایسه بین گروهی نتایج از آزمون آنوای یک طرفه و پست تست توکی و مقایسه داده‌ها در زمان‌های مختلف از آزمون آنوای با اندازه گیری مکرر استفاده شد؛ به علاوه، از آزمون غیر پارامتریک کروسکال والیس برای آنالیز داده تست‌های رفتاری استفاده شد. در تمام بررسی‌ها، $p < 0.05$ ، سطح معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

از نظر وزن، هیچ‌گونه تفاوتی معنی دار میان گروه‌ها در هفته قبل کار (سطح پایه) مشاهده نشد. گروه کنترل تحت تیمار با دوز پایین کورکومین به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم مشابه گروه کنترل، افزایش طبیعی در وزن را در پایان هفته ششم نشان داد. در گروه دیابتی در هفته ششم، کاهش معنی دار در مقایسه با هفته قبل از بررسی ($p < 0.01$) مشاهده شد؛ همین وضعیت درباره گروه دیابتی دریافت کننده کورکومین به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ولی در حد کمتر وجود داشت

و اندازه‌گیری کردن رفتار تناوب خودبه‌خودی حیوان در یک جلسه کاری مورد بررسی قرار گرفت. ماز مربوط به این آزمون از جنس پلکسی گلاس بود و هر بازو دارای ابعاد $40 \times 30 \times 15$ بوده، بازوها از طریق محوطه‌ای مرکزی به هم متصل می‌شدند. برای انجام آزمون، هر موش صحرایی در قسمت انتایی یک بازو قرار داده می‌شد و امکان دسترسی آزاد آن به تمام نواحی ماز در یک دوره زمانی ۸ دقیقه‌ای فراهم می‌آمد. تعداد دفعات ورود حیوان به داخل هر بازو با مشاهده کردن، ثبت می‌شد. ورود حیوان به داخل یک بازو، زمانی بود که پاهای عقبی حیوان به‌طور کامل در داخل بازو قرار می‌گرفت. رفتار تناوب به‌عنوان ورودهای موفق و پشت سر هم (سریال) به داخل تمام بازوها در مجموعه‌های سه تایی در نظر گرفته شد؛ بدین ترتیب درصد تناوب از نسبت تناوب مشاهده شده به حداکثر تناوب (۲ - تعداد کل بازوهای وارد شده) $\times 100$ محاسبه شد.

سنجش مالون دی آلدئید بافتی

پس از پایان کار و کشتن حیوان‌ها به روش یوتنزی، بلوک هیپوکامپ مغز جدا و پس از شستشو با محلول سالین سرد و خشک کردن آن، به سرعت توزین شده و سپس بافت به همراه بافر تریس به مدت ۲ دقیقه با دستگاه هموژنایزر با دور ۵۰۰۰ دور در دقیقه هموژنیزه (۱۰٪) شد و محلول هموژنیزه شده، سانتریفوژ شد. برای جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها و پروتئین‌ها تمامی مراحل گفته شده در دمای ۴ درجه سانتیگراد (سانتریفوژ یخچال‌دار) انجام شد. پس از انجام سانتریفوژ، محلول رویی شفاف از بقیه محلول جدا شده، بخش زیرین، رسوب کرده، دور ریخته شد و از محلول شفاف رویی برای سنجش استفاده شد. اندازه‌گیری سطح مالون دی آلدئید MDA براساس روشی است که اساس آن، واکنش تیوباریتوریک اسید TBA است که در دمای جوش انجام می‌گیرد. در این آزمایش، مالون دی آلدئید یا مواد شبه مالون دی آلدئید با تیوباریتوریک اسید واکنش داده، رنگ صورتی ایجاد می‌کند که ماکزیمم جذب نوری آن

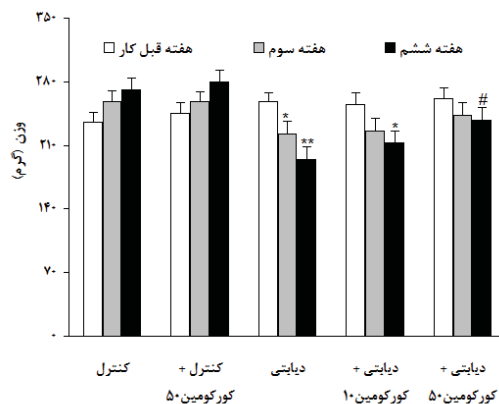
نتایج آزمون ماز Y که شاخصی از حافظه فضایی کوتاه‌مدت از نوع بازشناختی (Recognition) در جوندگانی نظیر موش صحرایی است (شکل ۴) نشان‌داد که درصد تناوب در حیوان‌های گروه دیابتی به‌طور معنی‌دار کمتر از گروه کنترل بوده ($p < 0/05$) و درصد تناوب در گروه‌های دیابتی تحت تیمار با کورکومین در دوز ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز در عمل، تفاوتی معنی‌دار در مقایسه با گروه دیابتی نشان‌داد؛ از طرف دیگر، درمان موش‌های دیابتی با دوز بالای کورکومین موجب افزایش معنی‌دار آن در مقایسه با گروه دیابتی شد ($p < 0/05$)؛ به‌علاوه، تجویز کورکومین به گروه کنترل نیز تغییری معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل ایجاد نکرد. از نظر تعداد کل بازوی وارد شده برای هر موش در آزمون Y که شاخصی از میزان توانایی حرکتی حیوان است، در عمل، تفاوتی معنی‌دار میان گروه‌ها یافت‌نشده و در هر دو گروه‌های دیابتی تیمار نشده و دیابتی‌های تیمار شده با کورکومین، این پارامتر در حد مختصر و به‌طور غیرمعنی‌دار از گروه کنترل کمتر بود.

با اندازه‌گیری سطح مالون دی آلدئید در بافت هیپوکامپ که شاخصی از استرس اکسیداتیو است، در گروه‌های مختلف در پایان هفته ششم مشخص شد که این پارامتر در گروه کنترل تحت تیمار با کورکومین در دوز بالا کاهشی مختصر و غیرمعنادار نسبت به گروه کنترل نشان‌می‌دهد. در گروه دیابتی در هفته ششم، سطح مالون دی آلدئید، افزایشی قابل‌ملاحظه و معنی‌دار نسبت به گروه کنترل نشان‌داد ($p < 0/05$)، و در گروه دیابتی تحت تیمار با کورکومین در دوز بالا، میزان افزایش مالون دی آلدئید نسبت به گروه دیابتی کمتر بود به‌طوری‌که در گروه دیابتی تحت تیمار با دوز بالای کورکومین، سطح مالون دی آلدئید در هفته ششم به‌طور معناداری کمتر از گروه دیابتی تیمار نشده بود ($p < 0/05$) (شکل ۵).

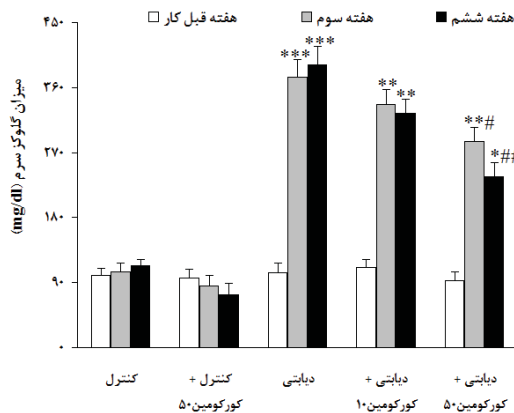
($p < 0/05$)؛ از طرف دیگر، کاهش وزن در گروه دیابتی تحت تیمار با دوز بالای کورکومین (۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با گروه دیابتی در هفته ششم در حد معنی‌دار کمتر بود ($p < 0/05$) (شکل ۱).

در خصوص میزان گلوکز سرم، در هفته قبل از بررسی، تفاوتی معنی‌دار میان گروه‌ها یافت‌نشده، در هفته ششم، میزان گلوکز سرم در گروه دیابتی و گروه‌های دیابتی تحت تیمار با کورکومین در حدی معنی‌دار ($p < 0/005$ تا $p < 0/005$)، بیشتر از گروه کنترل بود هر چند که با افزایش دوز کورکومین، این افزایش میزان گلوکز سرم تخفیف یافت. به‌علاوه، در گروه دیابتی تحت درمان با دوز بالای کورکومین، میزان گلوکز سرم در هفته ششم به‌طور معنی‌دار کمتر از گروه دیابتی درمان نشده بود ($p < 0/01$)؛ به‌علاوه گروه کنترل تحت تیمار با کورکومین، کاهش معنی‌دار این پارامتر را در مقایسه با گروه کنترل نشان‌داد (شکل ۲).

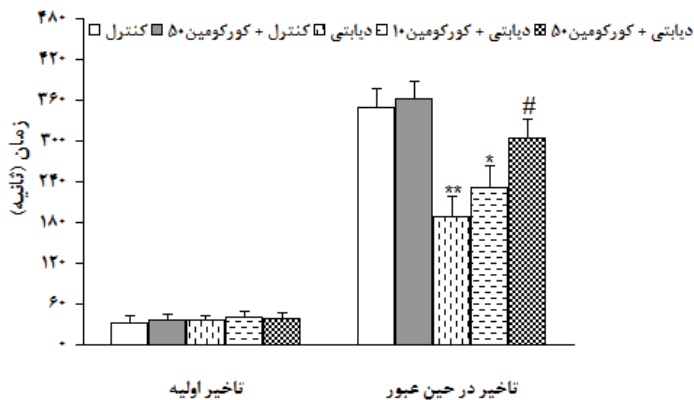
در موش‌های دیابتی و دیابتی‌های تحت تیمار با دوز پایین و دوز بالای کورکومین، افزایش مختصر و غیرمعنی‌دار درباره تأخیر اولیه در مقایسه با گروه کنترل به‌دست‌آمد؛ همچنین، از نظر تأخیر اولیه، هیچ‌گونه تفاوت معنی‌دار میان گروه‌های دیابتی و دیابتی‌های تحت تیمار مشاهده‌نشده که خود به مفهوم عدم تغییر توانایی موش‌ها در کسب اطلاعات جدید در موش‌های دیابتی تحت تیمار است؛ همچنین، تأخیر در حین عبور که شاخصی از توانایی حیوان برای نگهداری اطلاعات در انبارهای حافظه و به یاد آوردن آنهاست، کاهش معنی‌دار را در موش‌های دیابتی ($p < 0/01$) و دیابتی تحت تیمار با دوز پایین کورکومین ($p < 0/05$) نشان‌داد و این پارامتر در گروه دیابتی تحت تیمار با دوز بالای کورکومین در حد معنی‌دار بیشتر از گروه دیابتی بود ($p < 0/05$)؛ همچنین، تیمار موش‌های گروه کنترل با کورکومین، تغییر معنی‌دار تأخیر در حین عبور را در مقایسه با گروه کنترل به دنبال نداشت (شکل ۳).



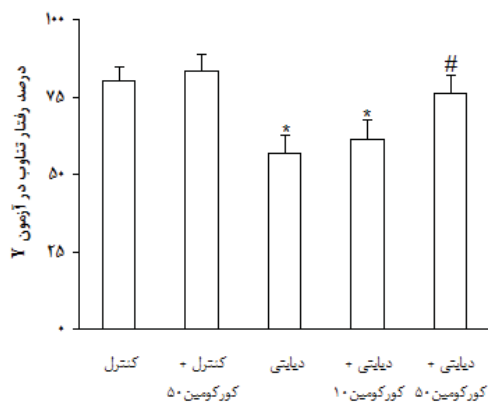
شکل ۱. تغییرهای وزن در هفته قبل کار و هفته‌های سوم و ششم پس از تزریق در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمار شده با کورکومین ($p < 0.05$ ، $p < 0.01$ **، $p < 0.001$ # (در مقایسه با هفته قبل کار در همان گروه)، $p < 0.05$ # (در مقایسه با گروه دیابتی در همان هفته)



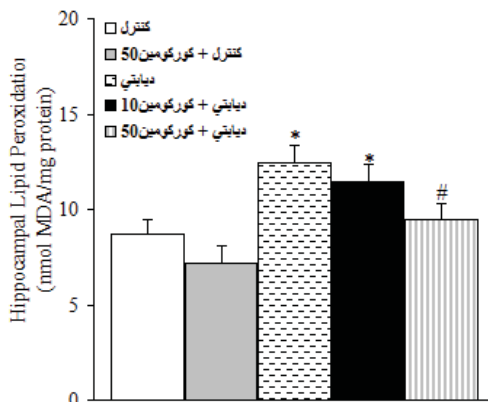
شکل ۲. تغییرهای گلوکز سرم در هفته قبل کار و هفته‌های سوم و ششم پس از تزریق در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمار شده با کورکومین ($p < 0.05$ ، $p < 0.01$ **، $p < 0.001$ ***، $p < 0.001$ # (در مقایسه با هفته قبل کار در همان گروه)، $p < 0.05$ #، $p < 0.01$ ## (در مقایسه با گروه دیابتی در همان هفته)



شکل ۳. میزان تأخیر اولیه و تأخیر در حین عبور در آزمون اجتنابی غیرفعال در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمار شده با کورکومین پس از گذشت شش هفته ($p < 0.05$ ، $p < 0.01$ **، $p < 0.001$ # (در مقایسه با گروه کنترل)، $p < 0.05$ # (در مقایسه با گروه دیابتی)



شکل ۸. میزان درصد تناوب در آزمون ماز Y در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمار شده با کورکومین پس از گذشت شش هفته * P<0/05 (در مقایسه با گروه کنترل)، # P<0/05 (در مقایسه با گروه دیابتی)



شکل ۹. میزان مالون دی آلدئید بافت هیپوکامپ مغز در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمار شده با کورکومین * P<0/05 (در مقایسه با گروه کنترل)، # P<0/05 (در مقایسه با گروه دیابتی)

نشان دادند و درمان با کورکومین در دوز بالا میزان مالون دی آلدئید را به صورت معنادار کاهش داد. براساس یافته‌های قبلی، بروز دیابت قندی در موجودات آزمایشگاهی (نظیر موش صحرایی) و جامعه انسانی با اختلال‌هایی در روندهای شناختی و حافظه و یادگیری، آتروفی مغز و افزایش احتمال ابتلا به دمانس همراه است. هرچند که ساختار بروز این اختلال‌ها در جامعه دیابتی به خوبی شناخته نشده، مشخص شده است که دو ناحیه قشر مغز و هیپوکامپ که از نواحی اصلی مرتبط با این روندها محسوب می‌شوند به میزان زیاد به دنبال دیابتی شدن تحت تأثیر قرار می‌گیرند؛ در این خصوص بروز دیابت قندی، تشدید استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی در برخی

بحث

براساس نتایج این مطالعه، کاهش معنی‌دار تأخیر در حین عبور در موش‌های دیابتی و دیابتی تحت تیمار با دوز پایین کورکومین مشاهده شد؛ این پارامتر به طور معنی‌دار در گروه دیابتی تحت تیمار با دوز بالای دارو بیشتر از گروه دیابتی بود، درصد تناوب در حیوانات دیابتی به طور معنی‌دار کمتر از گروه کنترل بود و این پارامتر در گروه‌های دیابتی تحت تیمار با دوز بالای دارو، بیشتر از گروه دیابتی بود؛ همچنین، موش‌های دیابتی افزایشی معنادار در سطح بافتی مالون دی آلدئید

نواحی مغزی شامل هیپوکامپ را سبب‌شده (۱۳ و ۱۴) و سطح فاکتورهای رشد شبه انسولین و فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز در برخی نواحی مغز کاهش می‌یابد (۱۵ و ۱۶)؛ به‌علاوه، محققان اخیر، کاهش توانایی حیوانات دیابتی را در خصوص تثبیت و به یادآوردن اطلاعات انبار-شده، پس از یک ماه گزارش کرده‌اند که همین نتیجه در بررسی حاضر نیز در هفته ششم به‌دست آمد. براساس شواهد موجود، تغییرهای حاصل در این توانایی‌ها را می‌توان به تغییرهای پلاستیسیته سیناپسی در ناحیه هیپوکامپ و در نتیجه، ایجاد اختلال در روند تقویت درازمدت نسبت-داد؛ البته شایان ذکر است که هرچند این تغییرها بیشتر در تثبیت اطلاعات دخالت دارند، براساس شواهد تحقیقاتی جدید به میزان کمتر در فراگیری مهارت‌های جدید و پیچیده نیز می‌توانند دخالت داشته باشند (۱۷ و ۱۸).

در پژوهش حاضر، تجویز درازمدت کورکومین در دوز بالا (به میزان ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) موجب بهبود یادگیری و حافظه در آزمون اجتنابی غیرفعال شد و حافظه فضایی را در آزمون Y بهبود بخشید؛ در این خصوص، پیش‌تر مشخص شده‌است که بروز دیابت قندی در جوندگانی نظیر موش کوچک آزمایشگاهی دیابتی‌شده با استرپتوزوتوسین، افزایش استرس اکسیداتیو ناشی از تشدید تشکیل رادیکال‌های فعال اکسیژن در برخی نواحی مغز به‌خصوص در دو ناحیه هیپوکامپ و قشر مغز که خود از نواحی اصلی یادگیری و حافظه محسوب می‌شوند را در پی دارد (۱۳ و ۱۴) و از طرف دیگر، کورکومین موجب کاهش استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی و حفاظت (نورون‌ها یا نرون؟ لطفاً یک‌دست شود) در برابر عوامل آسیب-رسان می‌شود (۸ و ۹) و از این طریق می‌تواند بهبودی در خصوص برخی روندها را سبب‌شود؛ همچنین، کورکومین قادر است، موجب کاهش بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب در بافت مغز شود (۱۰). با توجه به اینکه تشدید اکسیداسیون چنین موادی خود می‌تواند بخشی از اختلال یادگیری و حافظه را در موش‌های دیابتی توجیه‌کند، لذا بخشی از اثر سودمند کورکومین

در دوز بالا بر یادگیری و حافظه را می‌توان به مهار اکسیداسیون اسیدهای چرب نسبت‌داد؛ به‌علاوه، تشدید فعالیت میکروگلیا در نواحی مختلف مغز از جمله هیپوکامپ در موش‌های دیابتی مشاهده می‌شود (۱۰) که این روند می‌تواند در حضور تجویز کورکومین تخفیف یافته‌باشد که این اثر پیش‌تر اثبات شده‌است (۱۹). در این بررسی با اندازه‌گیری سطح مالون دی آلدئید در بافت هیپوکامپ مغز که خود، یکی از شاخص‌های بارز پراکسیداسیون لیپیدی در نواحی بافتی است، مشخص شد که با تجویز کورکومین در دوز بالا، سطح این پارامتر در هیپوکامپ حیوانات دیابتی کاهش می‌یابد که این خود بخشی از بهبود یادگیری و حافظه مشاهده‌شده در این تحقیق را توجیه می‌کند. در این خصوص دیابت قندی با تشدید روند استرس اکسیداتیو در بافتهای بدن همراه بوده و بخشی از تغییرهای بیوشیمیایی خون در دیابت قندی به‌ویژه در دیابت وابسته به انسولین از این طریق توجیه می‌شود (۱)؛ لذا بخشی از آثار سودمند این ماده در تحقیق حاضر را می‌توان به کاهش دادن پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو نسبت‌داد که این با نتایج تحقیقات پیشین درباره تأثیرهای این ماده همخوانی دارد (۸ و ۱۰).

در این بررسی از دو آزمون اجتنابی غیرفعال و ماز Y به‌ترتیب برای بررسی یادگیری و حافظه و حافظه فضایی حیوانات استفاده شد؛ در این خصوص، آزمون Y، حافظه فضایی در سطح ساده‌تر و از نوع بازشناختی (recognitive) را مورد ارزیابی قرار می‌دهد. برای سنجش حافظه فضایی در سطوح بالاتر آزمون‌هایی دیگر از جمله ماز شعاعی هشت پر و ماز آبی موریس نیز وجود دارند که [استفاده از آنها] در بررسی‌های آتی توصیه می‌شود؛ به‌علاوه، در بررسی حاضر، فقط سطح بافتی مالون دی آلدئید به‌عنوان شاخص استرس اکسیداتیو اندازه‌گیری شد هرچند پارامترهایی دیگر، نظیر میزان فعالیت سیستم دفاع آنتی اکسیدانت نیز در این رابطه اهمیت دارند که بهتر است در طراحی بررسی‌های بعدی نیز به

منابع

1. Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes mellitus: complications and therapeutics. *Med Sci Monit* 2006;12:RA130-47
2. Jackson-Guilford J, Leander JD, Nisenbaum LK. The effect of streptozotocin-induced diabetes on cell proliferation in the rat dentate gyrus. *Neurosci Lett* 2000; 293:91-94
3. 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; 182:99-106.
4. Parihar MS, Chaudhary M, Shetty R, Hemnani T. Susceptibility of hippocampus and cerebral cortex to oxidative damage in streptozotocin treated mice: prevention by extracts of *Withania somnifera* and *Aloe vera*. *J Clin Neurosci* 2004; 11:397-402.
5. Reagan LP, McEwen BS. Diabetes, but not stress, reduces neuronal nitric oxide synthase expression in rat hippocampus: implications for hippocampal synaptic plasticity. *Neuroreport* 2002; 13: 1801-1804.
6. Baydas G, Nedzvetskii VS, Nerush PA, Kirichenko SV, Yoldas T. Altered expression of NCAM in hippocampus and cortex may underlie memory and learning deficits in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Life Sci* 2003; 73:1907-1916.
7. Scartezzini P, Speroni E. Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. *J Ethnopharmacol* 2000; 71:23-43.
8. Ataie A, Sabetkasaei M, Haghparast A, Moghaddam AH, Ataee R, Moghaddam SN. Curcumin exerts neuroprotective effects against homocysteine intracerebroventricular injection-induced cognitive impairment and oxidative stress in rat brain. *J Med Food*. 2010;13:821-6.
9. Dairam A, Fogel R, Daya S, Limson JL. Antioxidant and iron-binding properties of curcumin, capsaicin, and S-allylcysteine reduce oxidative stress in rat brain homogenate. *J Agric Food Chem*. 2008;56(9):3350-6.
10. Shukla PK, Khanna VK, Ali MM, Khan MY, Srimal RC. Anti-ischemic effect of curcumin in rat brain. *Neurochem Res*. 2008;33:1036-43.
11. Wang Y, Yu C, Pan Y, Yang X, Huang Y, Feng Z, Li X, Yang S, Liang G. A Novel Synthetic Mono-Carbonyl Analogue of Curcumin, A13, Exhibits Anti-Inflammatory Effects In vivo by Inhibition of Inflammatory Mediators. *Inflammation*. 2011. In press.
12. Patumraj S, Wongeakin N, Sridulyakul P, Jariyapongskul A, Futrakul N, Bunnag S. Combined effects of curcumin and vitamin C to protect endothelial dysfunction in the iris tissue of STZ-induced diabetic rats. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2006; 35(4):481-9.
13. Lupien SB, Bluhm EJ, Ishii DN. Systemic insulin-like growth factor-I administration prevents cognitive impairment in diabetic rats, and brain IGF regulates learning/memory in normal adult rats. *J Neurosci Res* 2003; 74:512-523.

آنها توجه شود؛ همچنین، در طراحی تحقیق حاضر، گروه کنترل مثبت پیش‌بینی شده بود.

نتیجه‌گیری

به‌طور خلاصه، تجویز درازمدت کورکومین در دوز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب تقویت توانایی نگهداری اطلاعات در انبار حافظه و به یادآوردن آنها در حیوانات دیابتی‌شده و بهبود حافظه فضایی کوتاه‌مدت را به دنبال دارد و بخشی از تأثیرهای سودمند این ماده از طریق کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در بافت هیپوکامپ اعمال می‌شود.

تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله، مراتب تشکر وافر خود را از سرکار خانم فریبا انصاری، کارشناس گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی شاهد در کمک به انجام آزمایش‌ها اعلام می‌کنند.

14. Biessels GJ, ter Laak MP, Kamal A, Gispen WH. Effects of the Ca²⁺ antagonist nimodipine on functional deficits in the peripheral and central nervous system of streptozotocin-diabetic rats. *Brain Res* 2005; 1035:86-93.
15. Nitta A, Murai R, Suzuki N, Ito H, Nomoto H, Katoh G, Furukawa Y, et al. Diabetic neuropathies in brain are induced by deficiency of BDNF. *Neurotoxicol Teratol* 2002; 24:695-701.
16. Mayer G, Nitsch R, Hoyer S. Effects of changes in peripheral and cerebral glucose metabolism on locomotor activity, learning and memory in adult male rats. *Brain Res* 1990; 532:95-100.
17. Artola A, Kamal A, Ramakers GM, Biessels GJ, Gispen WH. Diabetes mellitus concomitantly facilitates the induction of long-term depression and inhibits that of long-term potentiation in hippocampus. *Eur J Neurosci* 2005; 22:169-178.
18. Sima AA, Li ZG. The effect of C-peptide on cognitive dysfunction and hippocampal apoptosis in type 1 diabetic rats. *Diabetes* 2005; 54:1497-1505.
19. Sharma S, Ying Z, Gomez-Pinilla F. A pyrazole curcumin derivative restores membrane homeostasis disrupted after brain trauma. *Exp Neurol*. 2010;226(1):191-9.